



**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>5</sup> :</b> <b>C07J 9/00, 51/00, A61K 31/56</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/12989</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 6. August 1992 (06.08.92)</b>
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/CH91/00221 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 25. Oktober 1991 (25.10.91) <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 257/91-7 28. Januar 1991 (28.01.91) CH <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> MARI- GEN S.A. [CH/CH]; Hackbergstrasse 40, CH-4125 Rie- hen (CH). <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US) :</b> EUGSTER, Carl [CH/ CH]; Hackbergstrasse 40, CH-4125 Riehen (CH). EUG- STER, Conrad, Hans [CH/CH]; Herrengütlistrasse 18, CH-8304 Wallisellen (CH). HALDEMANN, Walter [CH/CH]; Zeigerweg 23, CH-4102 Binningen (CH). RI- VARA, Giorgio [IT/IT]; Ospedale Maggiore San Gio- vanni Battista, Le Molinette, Corso Bramante, 88, I- 10126 Torino (IT).		<b>(74) Gemeinsamer Vertreter:</b> HALDEMANN, Walter; Zeiger- weg 23, CH-4102 Binningen (CH).  <b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AT (europäisches Patent), BE (euro- päisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (euro- päisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (euro- päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (euro- päisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäi- sches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (euro- päisches Patent), SE (europäisches Patent), SU, US.  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Mit geänderten Ansprüchen.</i>
<b>(54) Title:</b> NEW STEROL ESTERS AND STEROL PHOSPHORUS COMPOUNDS <b>(54) Bezeichnung:</b> NEUE STEROLESTER UND STEROLPHOSPHORVERBINDUNGEN <b>(57) Abstract</b> <p>Described are new sterol esters and sterol phosphorus compounds with an anti-tumour action, methods of preparing them and of preparing spontaneously dispersible agents, as well as methods of developing therapeutic preparations containing these agents.</p> <b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Es werden neue Sterolester und Sterolphosphorverbindungen mit antitumoraler Wirkung, Verfahren zu ihrer Herstellung und zur Bildung von spontan dispergierbaren Mitteln, sowie Methoden zur Entwicklung von therapeutischen Systempräparaten mit diesen Mitteln beschrieben.</p>		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MN	Mongolei
AU	Australien	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BB	Barbados	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BR	Brasilien	IE	Irland	RU	Russische Föderation
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Spanien	ML	Mali		

## Neue Sterolester und Sterolphosphorverbindungen

---

### E I N L E I T U N G

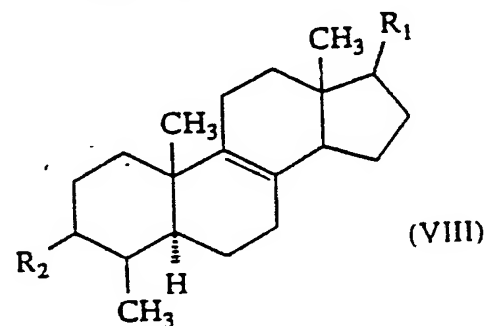
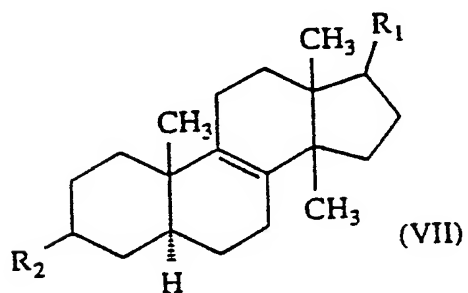
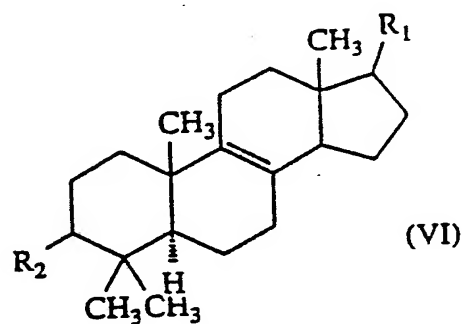
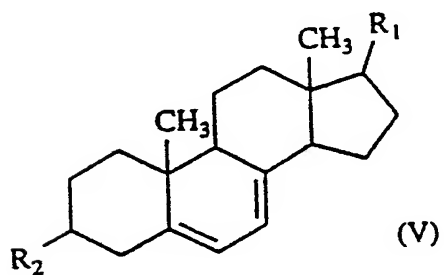
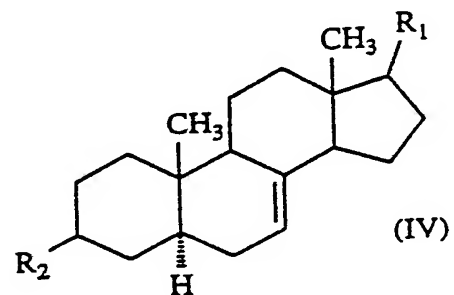
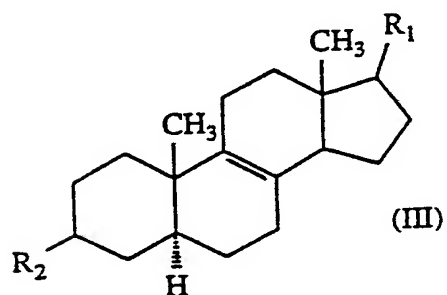
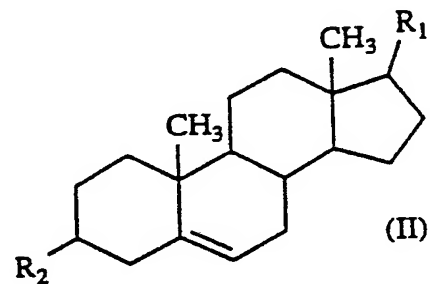
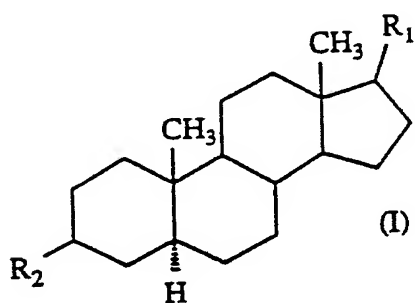
Die vorliegende Erfindung betrifft neue Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphonate, Verfahren zu ihrer Herstellung, spontan dispergierbare Mittel mit diesen Estern, Phosphatiden und Phosphonaten, sowie ihre Verwendung zur Behandlung von Tumoren.

In der CH-Patentschrift No. 678276-0 werden die aus den Extrakten der Samen der Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) und gewisser Kürbisarten (*Cucurbita pepo* L. und *Cucurbita maxima* Duch.) gewonnenen Sterole, deren Glucoside und deren Fettsäureester, wie auch die mit diesen Verbindungen hergestellten, spontan dispergierbaren Mittel und überdies ihre Verwendung zur Bekämpfung von Tumoren beschrieben.

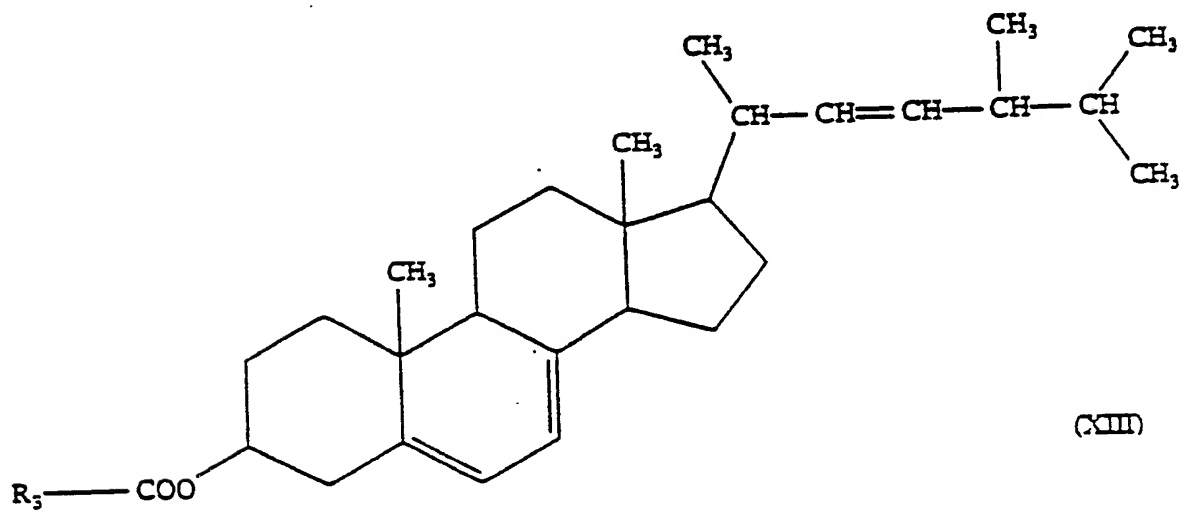
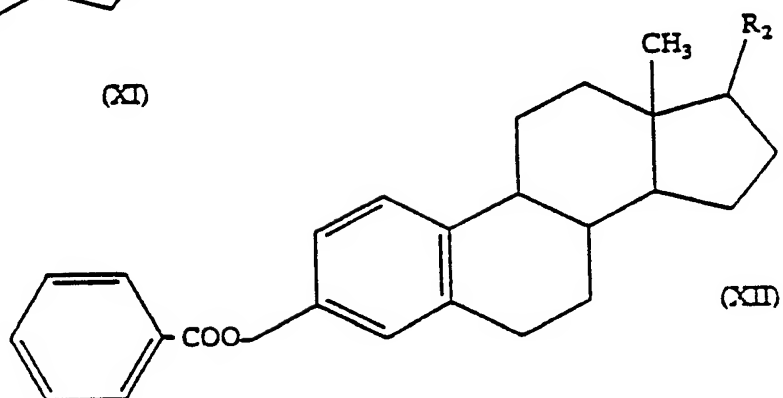
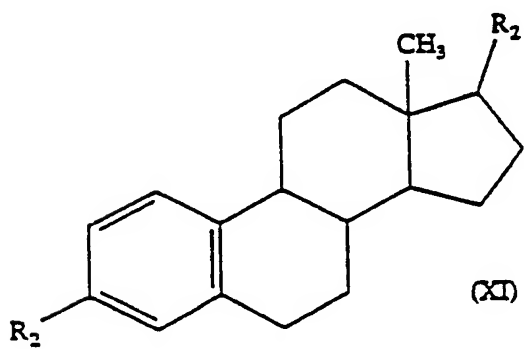
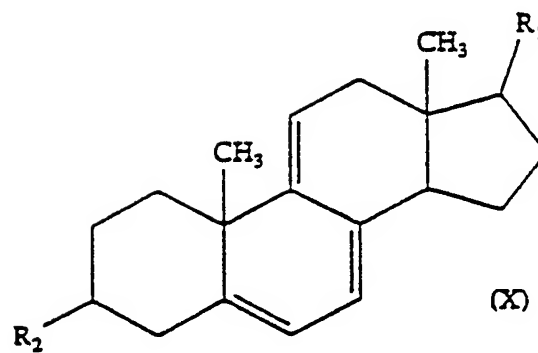
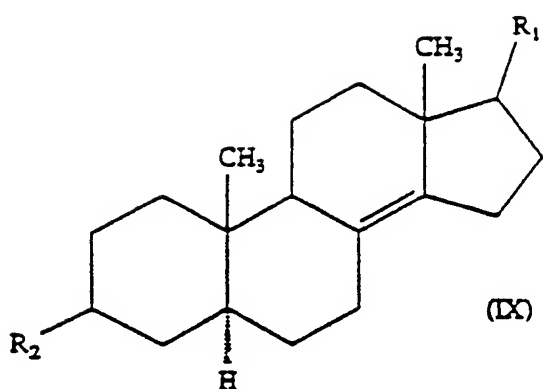
Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass die neu synthetisierten Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphorsäure-diester ebenfalls eine überragende antitumorale Wirkung aufweisen, insbesondere dann, wenn diese Verbindungen in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

**BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG**

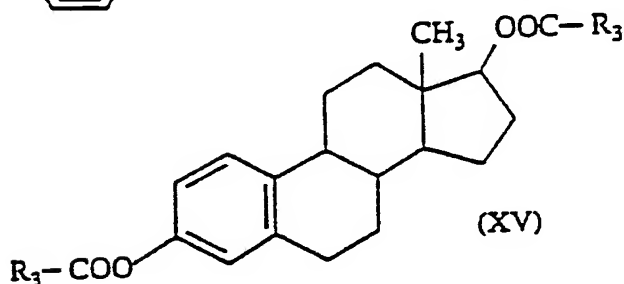
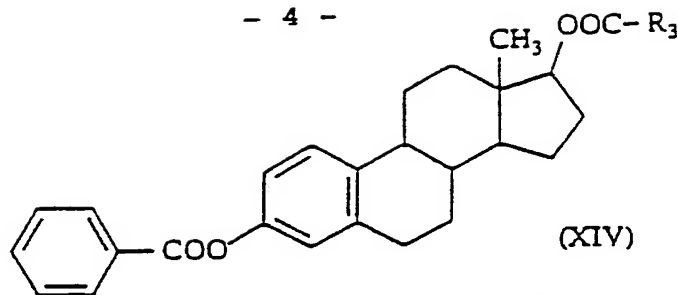
Die neuen Sterolester und Sterolphosphorverbindungen entsprechen den allgemeinen Formeln (I) bis (XV)



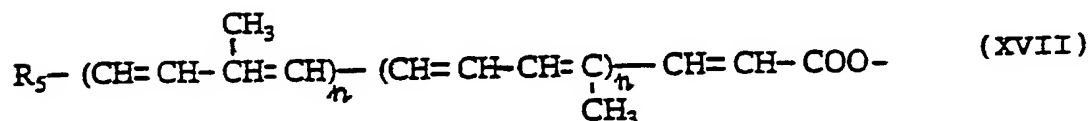
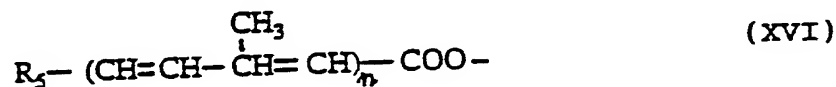
- 3 -



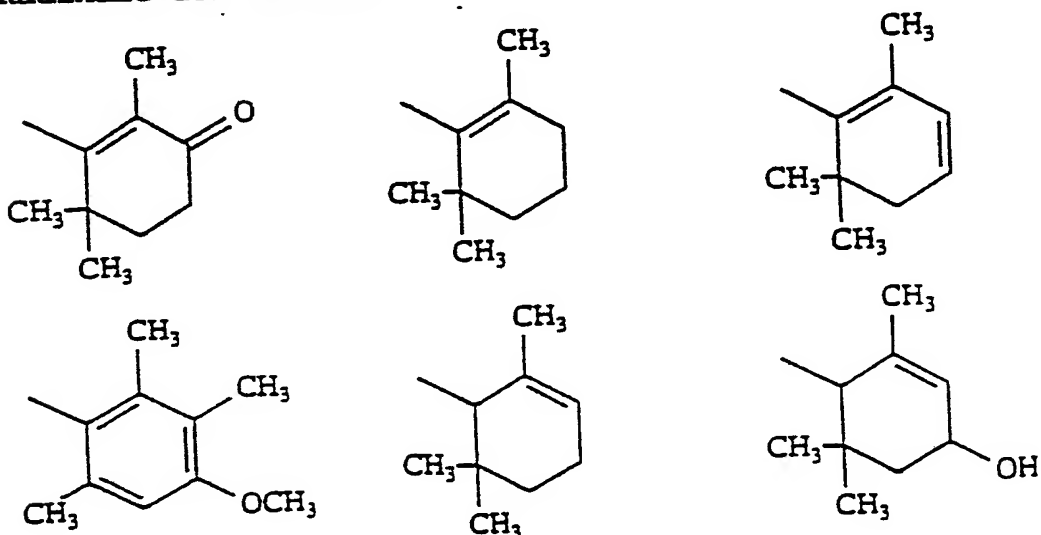
- 4 -



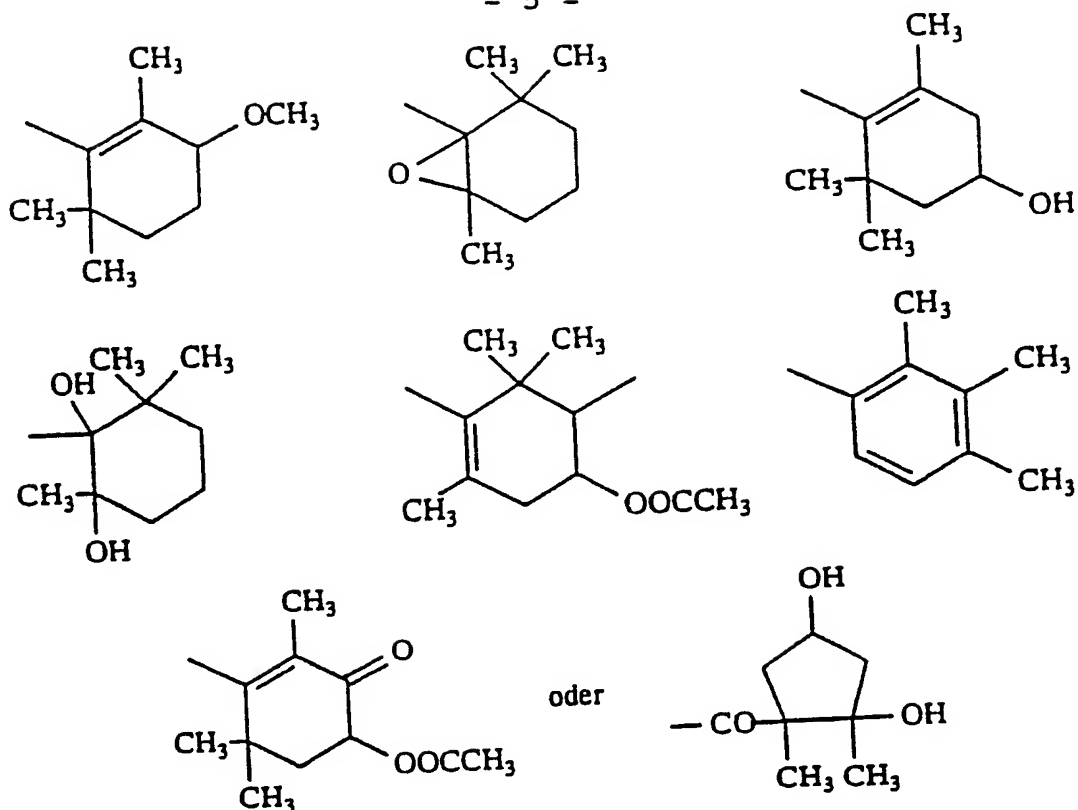
wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$  bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe und das Radikal  $R_2$  in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) und (XVII) ist:



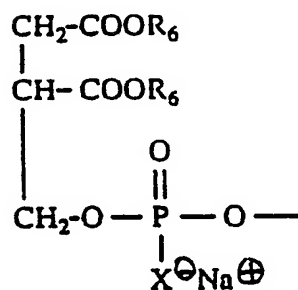
worin  $n$  die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und  $R_5$  für die Radikale der Formeln



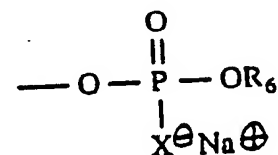
- 5 -



steht oder aber die Gruppe gemäss Formeln (XVIII) oder (XIX) darstellt:



(XVIII)



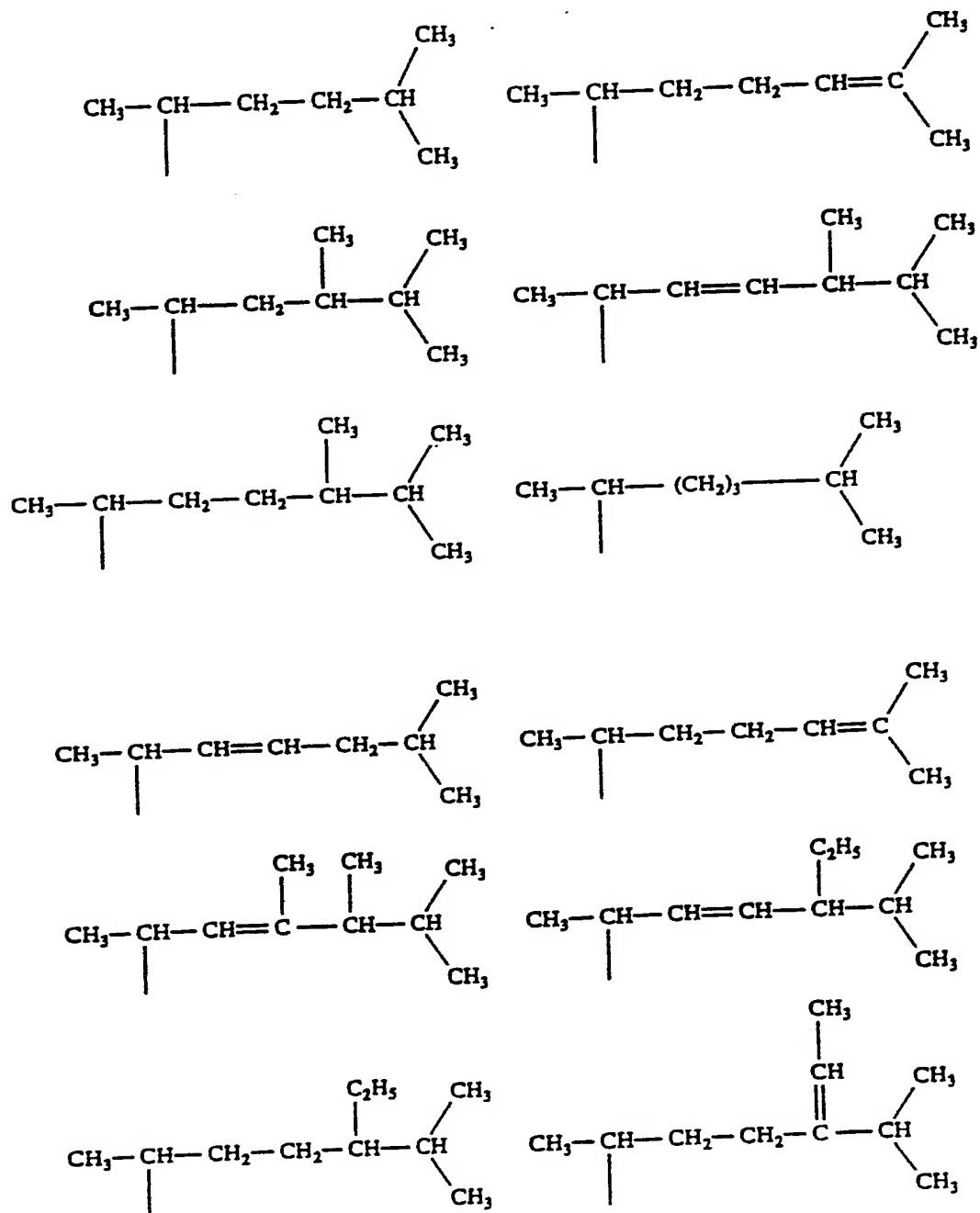
(XIX)

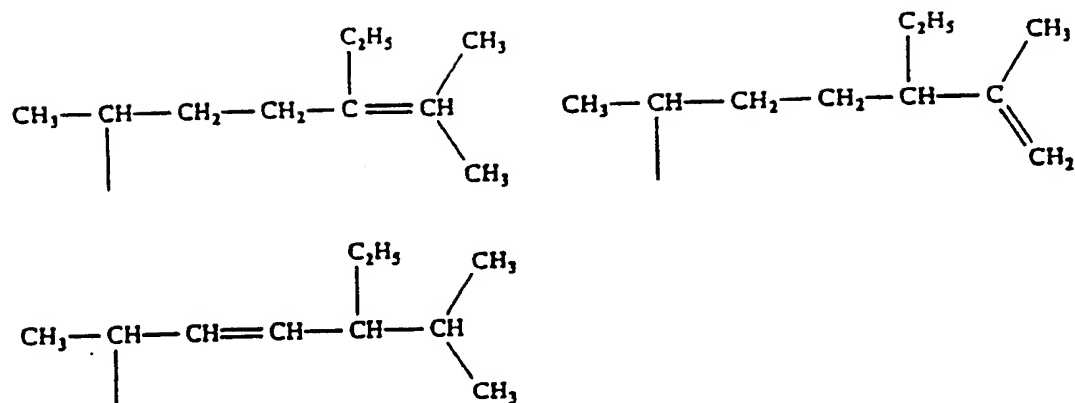
in welchen  $R_6$  eine  $C_1$  bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei  $R_3$  in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkylgruppe oder eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkaheptaene oder Alkaheptaene) steht.

Die Seitenketten bei  $R_1$ ,  $R_3$  und  $R_4$  können geradkettig

oder verzweigt sein. Bei R<sub>1</sub> haben die Alkyl- und die Alkenylgruppen vorzugsweise 8 bis 10 Kohlenstoffatome.

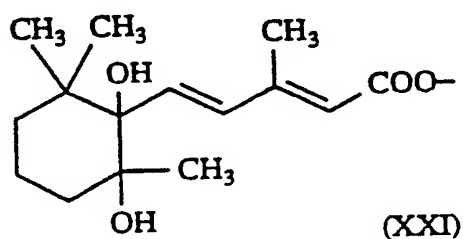
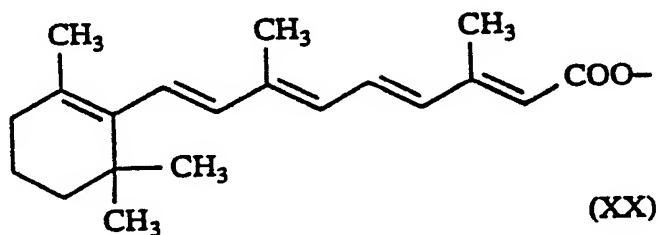
Beispiele solcher Alkyl- oder Alkenyl-Gruppen sind u.a.:



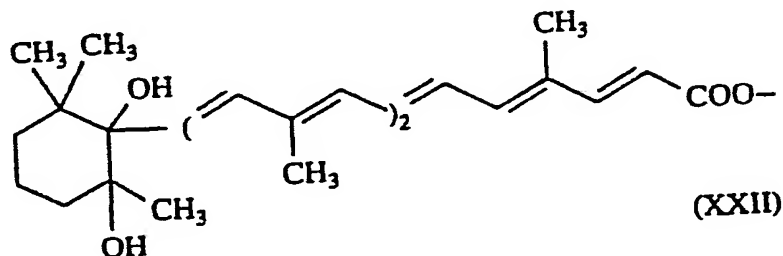


Bei R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> haben die Alkyl- und Alkenyl-/Alkapolyengruppen (mit 1 - 7 Doppelbindungen) vorzugsweise 4 bis 22 Kohlenstoffatome. Besonders bevorzugt sind bei R<sub>3</sub> und R<sub>4</sub> Alkyl- und Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppen mit 10 bis 20 Kohlenstoffatomen.

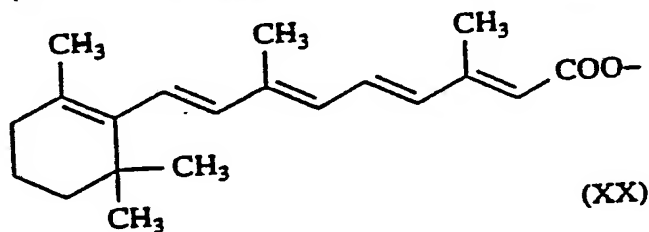
Wichtige Gruppen der Formeln (XVI) und (XVII) sind gekennzeichnet durch die Formeln (XX) oder (XXI):



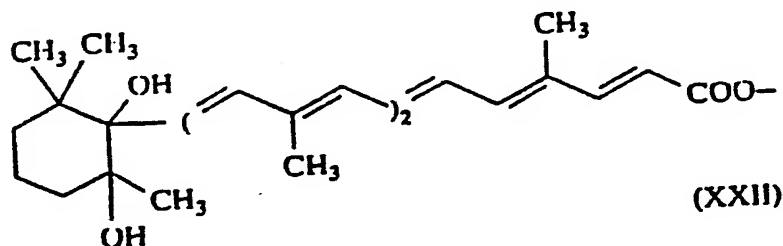
Die Gruppe der Formel (XX) liegt in verschiedenen stereoisomeren Formen, so z.B. als all-trans, als 9-cis oder als 13-cis-Form vor. Die wichtigste Gruppe der Formel (XVII) ist gekennzeichnet durch die Formel (XXII)



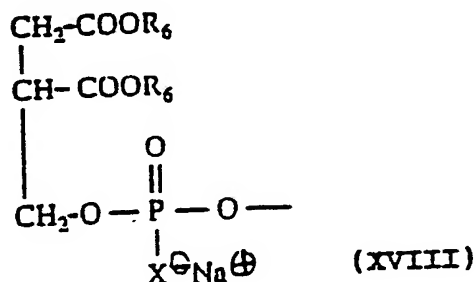
Von besonderer Bedeutung sind Verbindungen der Formeln (I) bis (XV), wobei ergänzend festgestellt sei, dass in den Formeln (I) bis (XII) das Radikal R<sub>1</sub> eine C<sub>1</sub> bis C<sub>10</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>10</sub>-Alkenylgruppe und das Radikal R<sub>2</sub> in den Formeln (I) bis (XII) eine Verbindung der Formel (XX) ist:



oder die Verbindung (XXII) bezeichnet:



oder aber die Gruppe gemäss Formel (XVIII) darstellt:



in welcher R<sub>6</sub> eine C<sub>1</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe oder eine Phosphorgruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei R<sub>3</sub> in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C<sub>4</sub>- bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder für eine C<sub>4</sub>- bis C<sub>32</sub>-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

Beispiele von erfindungsgemässen neuen Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) und von neuen Sterolphosphorverbindungen sind u.a.:

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-all-trans-retinat

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-13-cis-retinat

Cholest-5-en-3-ol-all-trans-retinat

Cholest-5-en-13-cis-retinat

Stigmast-5-en-3-ol-all-trans-retinat

( $\beta$ -Sitosterol-all-trans-retinat)

Stigmast-5-en-3-ol-13-cis-retinat

( $\beta$ -Sitosterol-13-cis-retinat)

Stigmast-5-en-3-ol-azafrinat

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-all-trans-retinat

(Stigmasterol-all-trans-retinat)

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-13-cis-retinat

(Stigmasterol-13-cis-retinat)

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-arachidonat

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-azafrinat

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid

Stigmasta-5,22-dien-3-ol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thio-phosphatid

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-1,2-diundecenoyl-glycero-phosphatid

Cholest-5-en-3-ol-1,2-diundecenoyl-glycero-phosphatid

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-crotonat

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-caproylat

Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-undecenoat

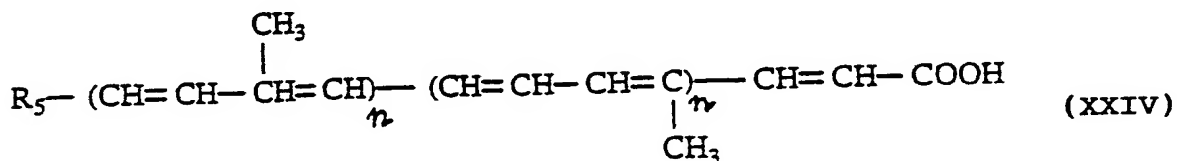
Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-dodecenoat  
 Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-oleat  
 Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-linoleat  
 Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-linolenat  
 Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-arachidonat  
 Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-azafrinat

$\beta$ -Oestradiol-3,17-diundecenoat  
 $\beta$ -Oestradiol-3,17-dioleat  
 $\beta$ -Oestradiol-3,17-diretinat  
 $\beta$ -Oestradiol-3-benzoat-17-undecenoat  
 $\beta$ -Oestradiol-3-benzoat-17-retinat

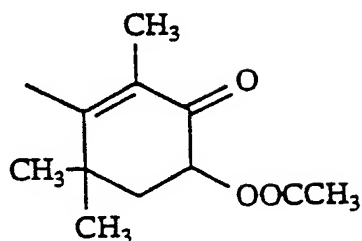
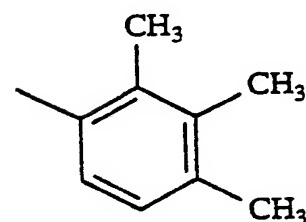
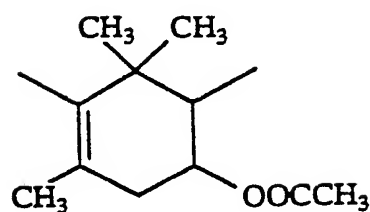
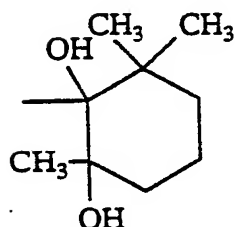
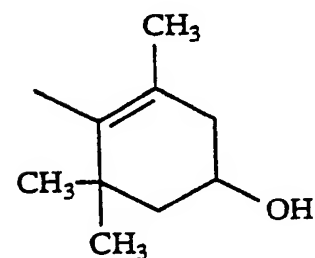
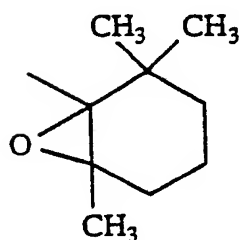
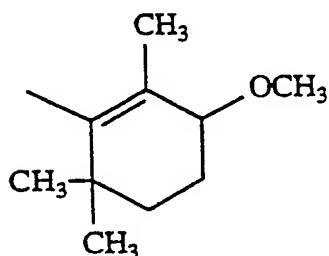
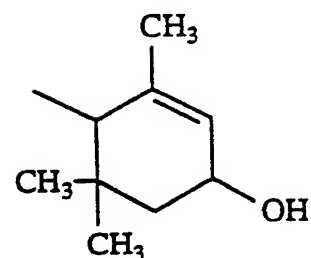
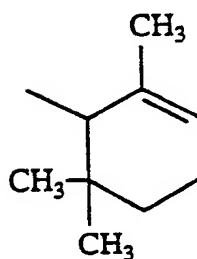
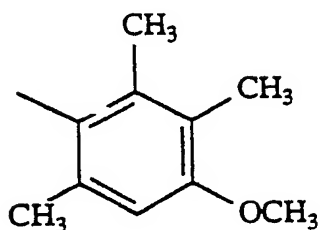
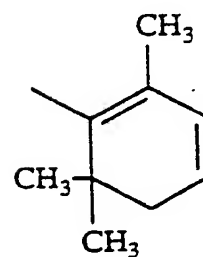
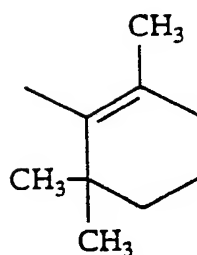
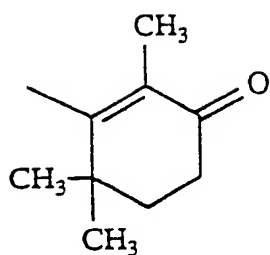
Ergosterol-3-retinyl-phosphonat  
 Ergosterol-3-geranyl-phosphonat  
 Ergosterol-3-farnesyl-phosphonat  
 Ergosterol-3-geranyl-phosphothioat  
 Ergosterol-3-farnesyl-phosphothioat

Die Sterolester, wie auch die Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XV) lassen sich allgemein nach folgenden, an sich bekannten Verfahren herstellen:

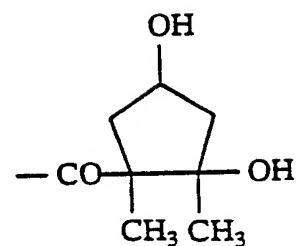
a) Umsetzung einer Verbindung der Formel (XXIII) und (XXIV):



worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und  $R_5$  für die Radikale der folgenden Formeln:

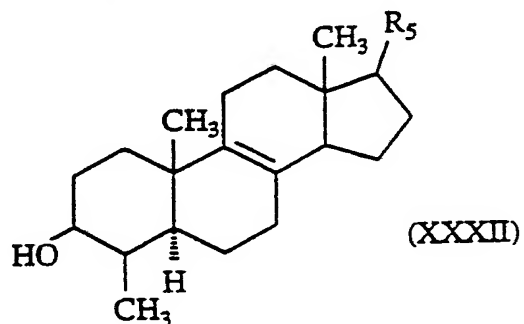
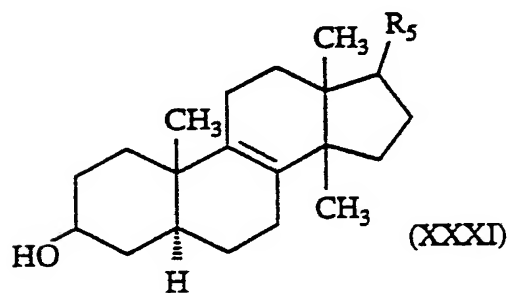
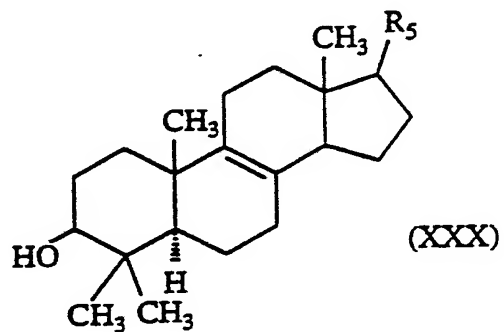
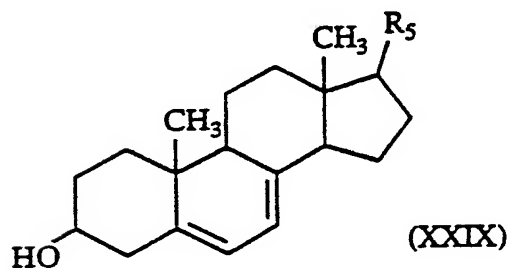
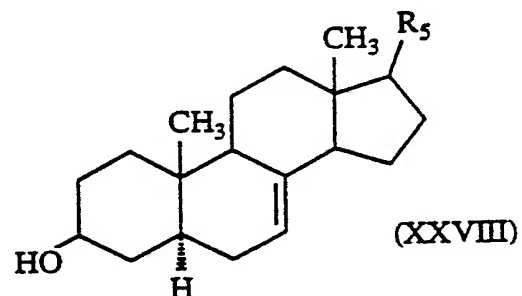
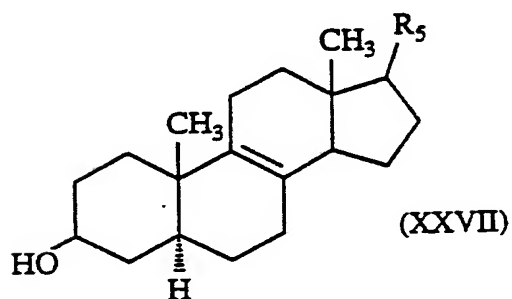
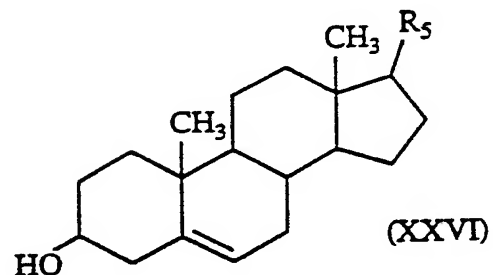
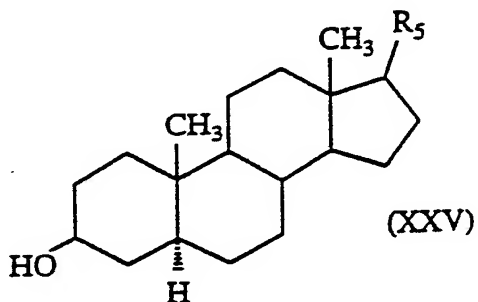


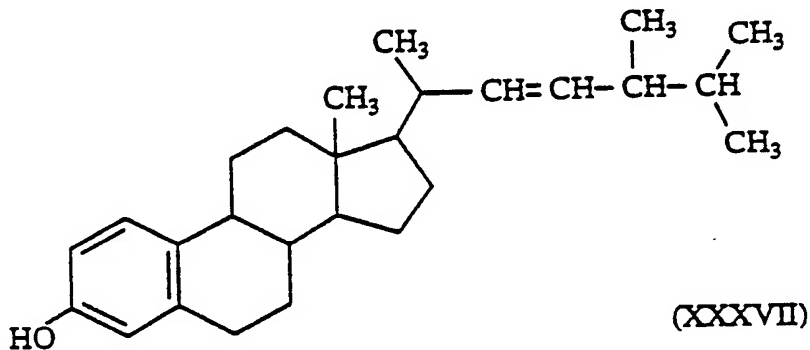
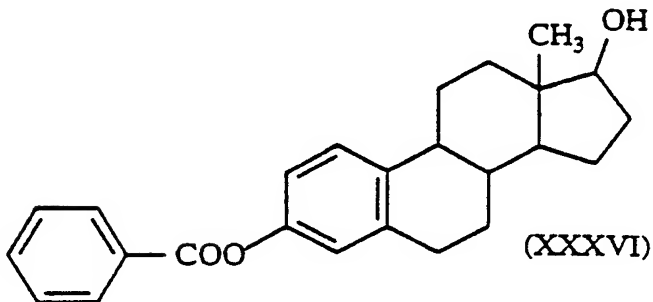
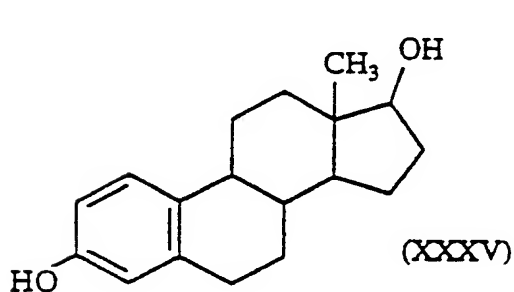
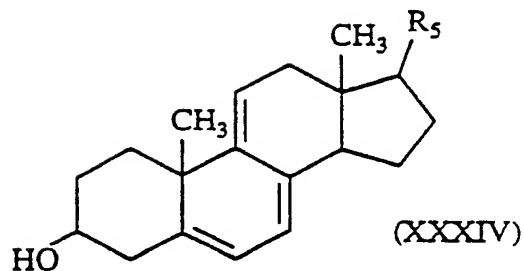
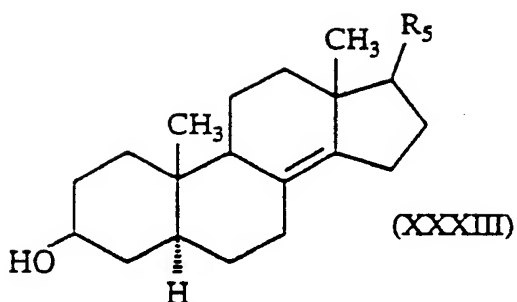
oder



steht, mit N,N'-Carbonyl-diimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem

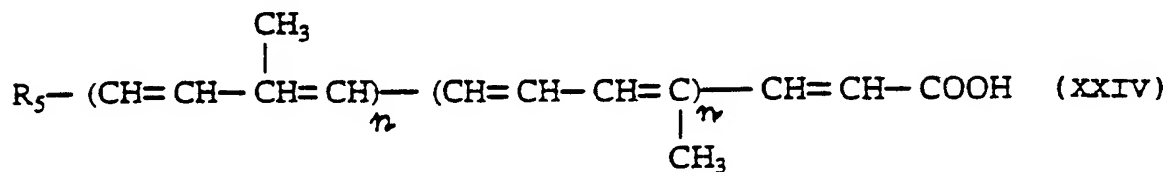
indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Benzol, Chloroform oder Dimethylformamid und anschliessender Alkoholyse der gebildeten Imidazolide mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) :



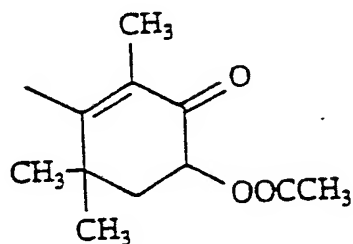
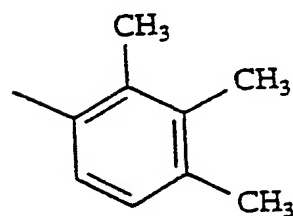
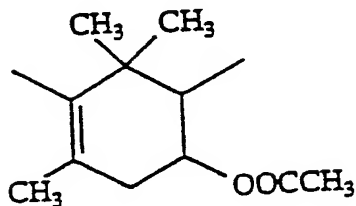
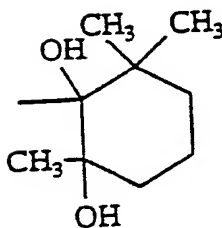
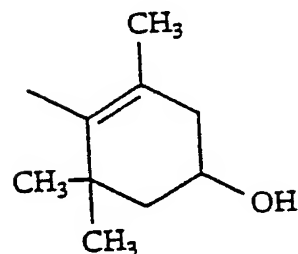
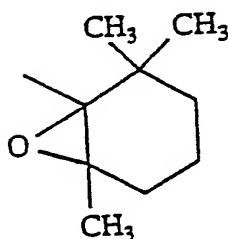
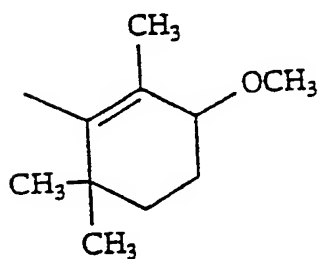
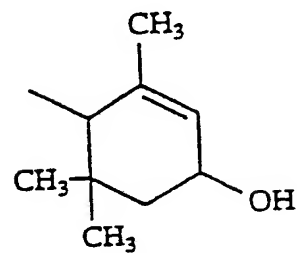
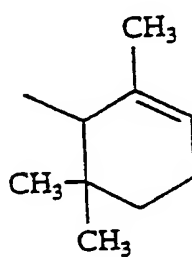
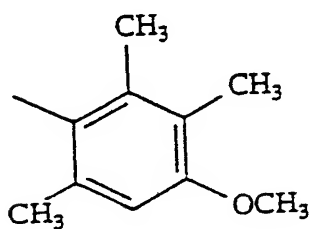
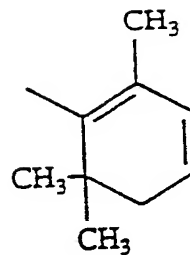
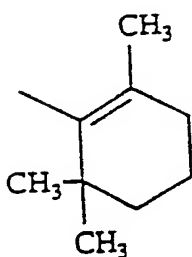
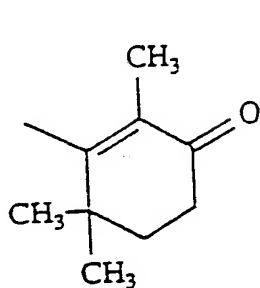


worin das Radikal  $R_5$  für eine  $C_1$  bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe steht.

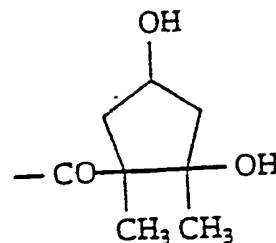
b) Bildung des Chlorides, bzw. des Bromides einer Verbindung der Formeln (XXIII) oder (XXIV) :



worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und R<sub>5</sub> für die Radikale mit folgenden Formeln steht:



oder

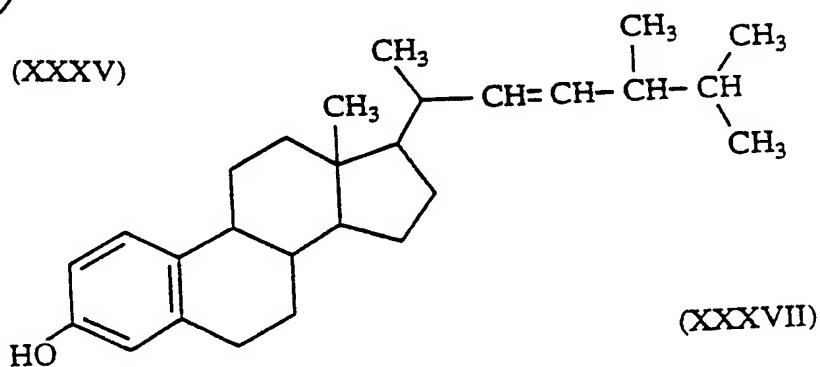
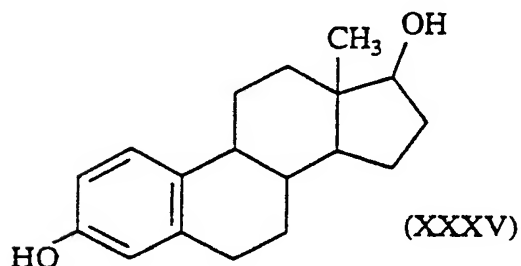


mit einem Chlorierungs- oder Bromierungsmittel, wie z.B. Thionylchlorid, Oxalylchlorid oder Oxalylbromid, und anschließender Umsetzung mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) [Vgl. Verfahren a)] bei einer Temperatur von 40 bis 120 °C in einem indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Toluol oder Xylol und in Gegenwart eines Katalysatoren wie z.B. Dimethylformamid oder p-Dimethylaminopyridin.

c) Chlorierung oder Bromierung einer Verbindung der Formel (XXXVIII) :



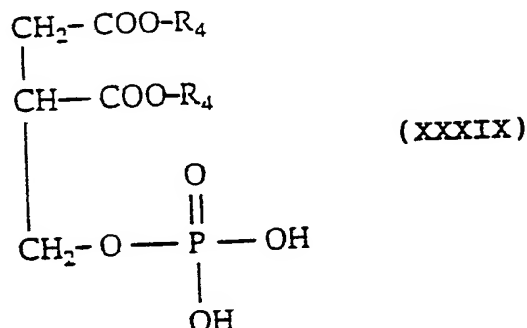
worin  $R_7$  eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel wie z.B. Thionylchlorid, Oxalylchlorid oder Oxalylbromid und anschließender Reaktion der entstandenen Chloride, bzw. Bromide mit einem Sterol der Formeln (XXXV) oder (XXXVII) :



bei einer Temperatur zwischen 40 und 120 °C in einem indifferenten Lösungsmittel wie z.B. Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform, Toluol oder Xylol in Gegenwart eines Katalysatoren wie z.B. Dimethylformamid oder p-Dimethylaminopyridin.

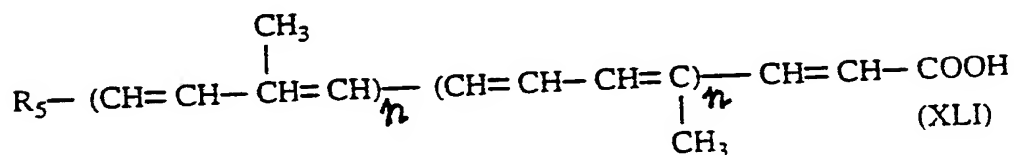
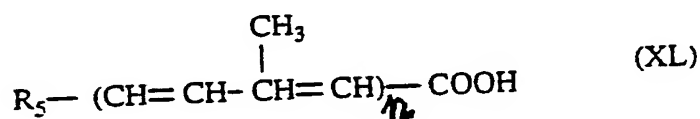
- 16 -

d) Veresterung einer Verbindung der Formel (XXXIX) :



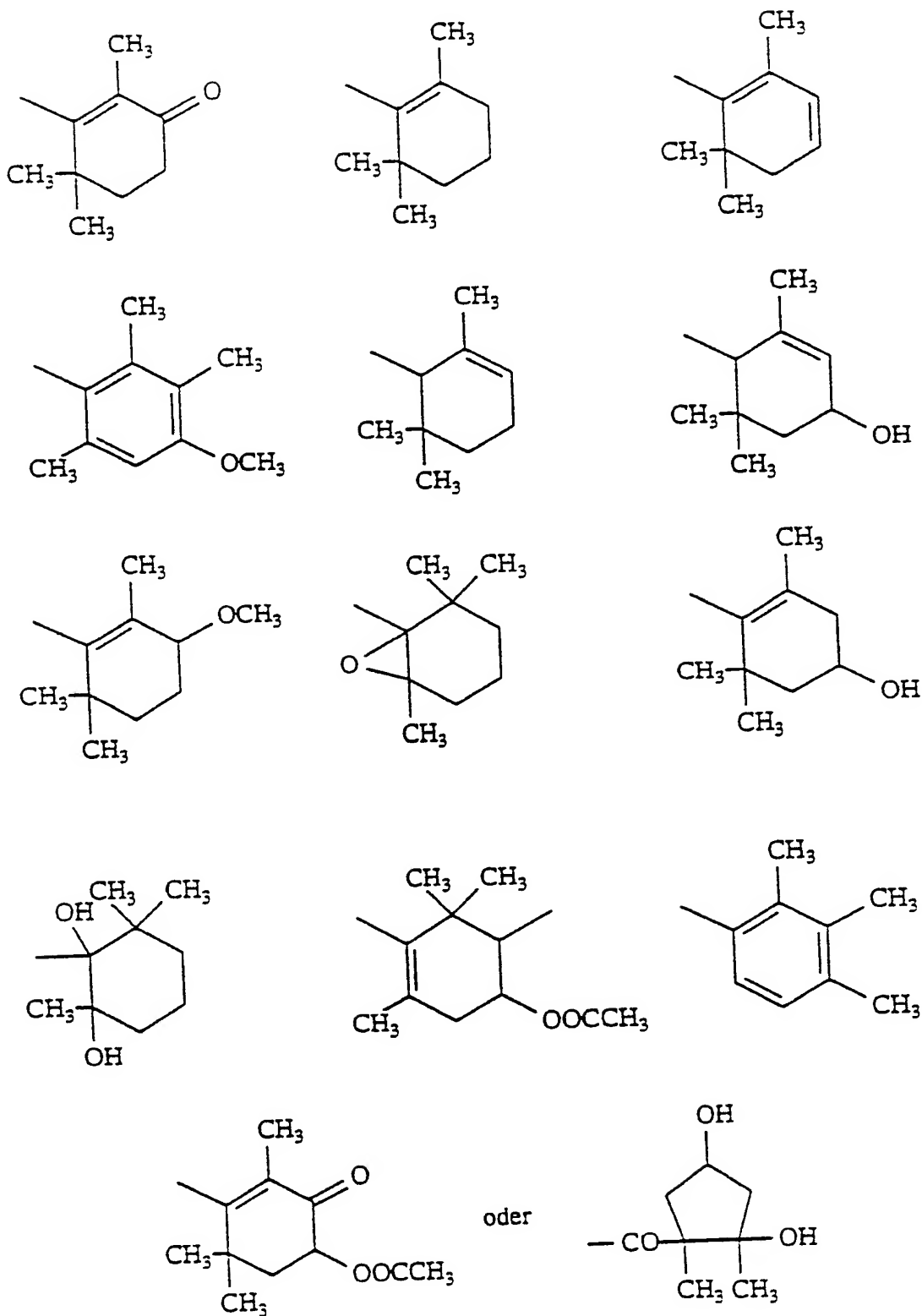
worin R<sub>4</sub> eine C<sub>1</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt, in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin, Tetrahydrofuran oder Chloroform bei einer Temperatur von 20 °C mit Pivaloylchlorid und anschliessender Umsetzung des Reaktionsproduktes in der gleichen Lösung mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII).

e) Bildung des Hydrogenphosphonates von einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Acetonitril unter Zusatz von Phosphortrichlorid und Imidazol und anschliessender Umsetzung der gereinigten und getrockneten Rohprodukte in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin, Tetrahydrofuran oder Chloroform bei einer Temperatur von 20°C unter Zusatz von Pivaloylchlorid mit einer Verbindung der Formeln (XL), (XLI) oder (XLII) :



(XLII)

worin n die Zahlen 1,2,3 oder 4 meint und R<sub>5</sub> für die Radikale mit folgenden Formeln:



steht und  $R_6$  eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt.

- 18 -

Die entsprechenden Phosphothioatverbindungen der Sterole der Formeln (XXV) bis (XXXVII) werden aus den jeweils dazu passenden, getrockneten Hydrogenphosphonaten (vgl. oben) unter Zusatz von Pivaloylchlorid und Schwefel in einem inerten Lösungsmittel wie z.B. Pyridin oder Toluol hergestellt.

Die neuen Sterolester, Sterolphosphatide und Sterolphosphonatverbindungen haben überraschenderweise eine ausgezeichnete antitumorale Wirkung, vor allem dann, wenn sie in spontan dispergierbare Konzentrate eingearbeitet worden sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind deshalb auch spontan dispergierbare Konzentrate mit diesen Verbindungen. Solche Konzentrate ergeben, mit Wasser versetzt, Mikroemulsionen von hervorragender Phasenstabilität und von überaus deutlich erhöhtem Permeations- und Spreitungsvermögen.

Die erfindungsgemäss spontan dispergierbaren Konzentrate enthalten:

0,001 bis 25, bevorzugt 0,001 bis 15, Gewichts-% einzelner Sterolester oder Sterolphosphorverbindungen Formeln I bis XV, bzw. Kombinationen dieser Komponenten, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel.

Die erfindungsgemäss einzusetzenden Tenside oder Tensidgemische können anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen sein. Am besten sind sie nicht-ionogen und haben einen HLB-Wert (d.h. eine "hydrophilic-lipophilic-balance") zwischen 2 - 18; bevorzugt liegt er zwischen 2 - 6 einerseits und 10 - 15 andererseits. HLB-Werte geben Auskunft über die lipophilen und hydrophilen Eigenschaften eines Emulgators. Vgl. dazu "Hydrophile - Lipophile Balance: History and recent Developments" von Paul Becher im Journal of Dispersion Science and Technology. 5 (1), 81-96 (1984).

Geeignete anionische Tenside können sowohl sog. wasserlösliche Seifen als auch wasserlösliche synthetische Verbindungen sein.

Als Seifen eignen sich die Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierten Ammoniumsalze von höheren Fettsäuren (C<sub>10</sub> bis C<sub>22</sub>), wie z.B. die natürlichen Na- oder K-Salze der Oel- oder Stearinsäure, oder von natürlichen Fettsäuregemischen, welche sich u.a. aus Kokosnuss- oder Talgöl gewinnen lassen. Ferner sind als Tenside auch die Fettsäure-Methyltaurinsalze, sowie modifizierte und nicht-modifizierte Phospholipide zu erwähnen.

Häufiger werden jedoch sogenannte synthetische Tenside verwendet, insbesondere Fettsulfonate, Fettsulfate, sulfonierte Benzimidazolderivate oder Alkylarylsulfonate.

Die Fettsulfonate und -sulfate liegen in der Regel als Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze vor und weisen im allgemeinen einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen auf, wobei Alkyl auch den Alkylteil von Acylresten einschliesst. Beispiele hierfür sind das Na- oder Ca-Salz der Ligninsulfosäure, des Dodecylschwefelsäure-esters und Sulfonsäuren von Fettalkohol-Aethylenoxyd-Addukten. Die sulfonierten Benzimidazol-Derivate enthalten vorzugsweise zwei Sulfonsäuregruppen und einen Fettsäurerest mit etwa 8 - 22 C-Atomen. Alkylaryl-Sulfonate sind z.B. die Na-, Ca- oder Triäthanolaminsalze der Dodecylbenzolsulfonsäure, der Dibutylnaphthalinsulfonsäure oder eines Naphthalinsulfonsäure-Formaldehydkondensationsproduktes.

Als nichtionische Tenside stehen in erster Linie zur Wahl die Polyglykolätherderivate von aliphatischen oder cycloaliphatischen Alkoholen, gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren und Alkylphenolen, welche 3 bis 30 Glykoläthergruppen und 8 bis 20 C-Atome im (aliphatischen) Kohlenwasserstoffrest und 6 bis 18 C-Atome im Alkylrest enthalten können. Weiterhin kommen als nichtionische Tenside in Frage die wasserlöslichen, 20 bis 250 Aethylenglykoläthergruppen und 10 bis 100 Propylenäthergruppen enthaltenden Polyäthylenoxydaddukte an Polypropylenglykol und Alkylpolypropylenglykol mit 1 bis 10 C-Atomen in der Alkylkette. Die genannten Verbindungen enthalten üblicherweise pro Propylenglykol-Einheit 1 bis 5 Aethylenglykoleinheiten.

Als Beispiele nicht-ionischer Tenside seien erwähnt:

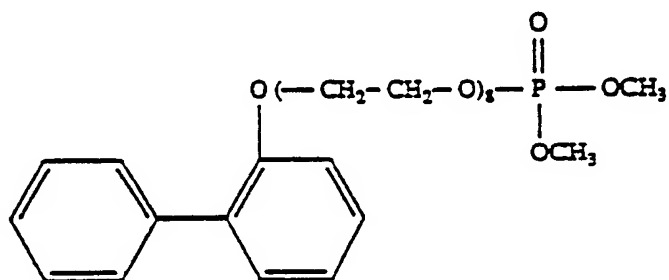
Nonylphenolpolyäthoxyäthanoole, Ricinusölpolyglykoläther, Polypropylen-Polyäthylenoxyd-Addukte, Tributylphenoxy-polyäthoxyäthanol, Polyäthylenglykol und Octylphenoxy-polyäthoxyäthanol. Ueberdies kommen auch Fettsäureester von Polyoxyäthylensorbitan, wie das Polyoxyäthylensorbitantriolat, in Betracht.

Bei den kationischen Tensiden handelt es sich vor allem um quaternäre Ammoniumsalze, welche als N-Substituenten mindestens einen Alkylrest mit 8 bis 22 C-Atomen enthalten und als weitere Substituenten niedrige, gegebenenfalls halogenierte Alkyl-, Benzyl- oder niedrige Hydroxyalkylreste aufweisen. Die Salze liegen vorab als Halogenide, Methylsulfate oder Aethylsulfate vor, z.B. das Stearyltrimethylammoniumchlorid oder das Benzyl-di-(2-chloräthyl)-äthylammoniumbromid.

In hohem Masse bevorzugt zur Herstellung von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentraten sind Phosphorsäureestertenside, wie z.B. :

Tristyrylphenolpolyoxyäthylen-18-mono/dimethyl-Phosphorsäureester (Soprophor® FL, Rhône-Poulenc);

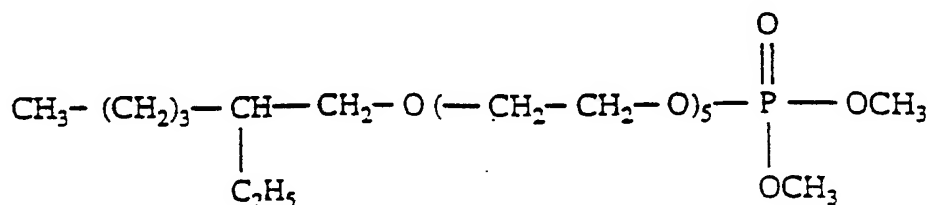
Nonylphenol-10-polyoxyäthylen-mono/dimethylphosphorsäureester (Diphasol® 3873, CIBA-GEIGY);



(Tensid 508, CIBA-GEIGY);

Tinovetin® JU (CIBA-GEIGY), ein Hydroxybiphenyl-10-Aethoxy-Phosphorsäureester;

Butyl-mono-4-Aethoxy-Phosphorsäureester (Zerostat® AT, CIBA-GEIGY), bzw.



(Zerostat AN®, CIBA-GEIGY)

- 22 -

Als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienende, pharmaverträgliche Lösungsmittel lassen sich einsetzen, z.B.:

Ester eines aliphatischen Alkohols ( $C_3 - C_{18}$ ) mit einer aliphatischen Carbonsäure ( $C_{10} - C_{22}$ ), wie etwa Isopropyllaurat, Hexyllaurat, Decyllaurat, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat und Laurylmyristat; Kohlenwasserstoffe mit einer geraden Kohlenstoffkette ( $C_{12} - C_{32}$ ), welche mit 6 - 16 Methylgruppen substituiert ist und bis 6 Doppelbindungen aufweisen kann, wofür Terpene wie Polymethylbutane und Polymethylbutene als Beispiele dienen mögen.

Mono-Ester aus Äthylenglykol oder Propylenglykol mit einer aliphatischen Carbonsäure ( $C_6 - C_{22}$ ), wie etwa Propylenglykolmonolaurat und Propylenglykolmonomyristat.

Ester aus einem aliphatischen Alkohol ( $C_{12} - C_{22}$ ) mit Milchsäure, wie z.B. Myristyl- oder vorzugsweise Lauryl-Lactat; Mono-, Di- oder Triester des Glycerins mit einer aliphatischen Carbonsäure ( $C_6 - C_{22}$ ), wie z.B. Glyceryl-Caprylat, oder Miglyol® 812 Neutralöl (Oleum neutrale).

Ester aus einem Poly(2 - 7)äthylenglykolglyzerinäther mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe mit einer aliphatischen Carbonsäure ( $C_6 - C_{22}$ ), wie z.B. aliphatische Alkohole ( $C_{12} - C_{22}$ ), somit u.a. Dodecanol, Tetradecanol, Oleylalkohol, 2-Hexyldecanol und 2-Octyl-decanol.

Ester mit mindestens einer freien Hydroxylgruppe, aus Poly-(2-10)glykol mit einer aliphatischen Carbonsäure ( $C_6 - C_{22}$ ),

Monoäther aus einem Polyäthylenglykol mit einem aliphatischen Alkohol ( $C_{12} - C_{18}$ ), wie z.B. Polyoxyäthylen-( $C_{10}$ )octyläther.

Heterocyclische Verbindungen, wie z.B. 1-Methyl-2-Pyrrolidon.

Alle technischen Tenside wurden vor dem Eintrag in die spontan dispergierbaren Konzentrate mittels Filtration, bzw. Chromatographie über neutralem Aluminiumoxyd mit einem inerten Lö-

sungsmittel wie z.B. Tetrahydrofuran, Aethylalkohol oder Methylenchlorid gereinigt.

Als Zusätze in die erfindungsgemässen spontan dispergierbaren Konzentrate eignen sich Vitamine und Provitamine (wie z.B. Vitamin A, Retinol, Carotine, Tocopherole), sowie auch freie Fettsäuren wie etwa:

Valeriansäure, Isovaleriansäure, Sorbinsäure, Isocaproinsäure, Laurinsäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachidsäure, Behensäure, Hexacosansäure, Octacosansäure, Pentadecansäure, Decenylsäure, Undecenylsäure, Dodecenylsäure, Oleinsäure, Linolsäure, Linolensäure, Arachidonsäure, Eruksäure, etc.

Die zur pharmazeutischen Anwendung erforderliche Tagesdosis beträgt 0,001 bis 25 mg/kg Körpergewicht, wenn möglich verteilt auf 2 - 3 Einzeldosen. Hiefür lassen sich die Fettsäureester von Sterolen oder die spontan dispergierbaren Konzentrate mit diesen Estern in die gängigen pharmazeutischen Zubereitungen und Darreichungsformen wie Dragées, Tabletten, Kapseln, Pulver, Granulat, Pellets, Lösungen, Ampullen, Emulsionen, Crèmes oder Zäpfchen zusammen mit den üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungs- und Stabilisierungsmitteln einarbeiten.

Die Gegenstand der Erfindung bildenden Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen, sowie die spontan dispergierbaren Konzentrate, welche diese Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen enthalten, können dem Menschen oral, durch Injektion (intravenös, subkutan oder intramuskulär) oder in anderer Weise verabreicht werden. Wenn sie als feste Darreichungsformen für die orale Verwendung aufbereitet werden, kann dies in Form von Tabletten, Granulaten, Pellets, Pulvern oder Kapseln, usw. geschehen. Die Aufbereitungen können Zusatzstoffe enthalten, z.B. einen Arzneimittelträger wie eine Saccharid- oder Cellulose-Grundlage, ein Bindemittel wie Stärkepaste oder Methyl-Cellulose, ein Füllmittel oder ein Desintegriermittel, usw. - wobei

- 24 -

Zusatzstoffe eingesetzt werden, wie sie üblicherweise bei der Herstellung medizinischer oder paramedizinischer Formulierungen verwendet werden. Wenn die erfindungs-konformen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen als flüssige Darreichungsformen zu oraler Verabreichung gelangen, so können sie irgend eine aus wässrigen Zubereitungen für innere Verwendung, aus Suspensionen, Emulsionen und Sirups usw. ausgewählte Form haben, und sie können ausserdem in der Form getrockneter Präparate vorliegen, welche vor ihrer Verwendung in Lösung oder Emulsion gebracht werden.

Wenn die erfindungsgemässen Wirkstoffe oder Wirkstoffmischungen in der Form wässriger Lösungen, Suspensionen oder ölicher, bzw. wässriger Emulsionen, vorzugsweise als Mikroemulsionen aus den erfindungskonformen, spontan dispergierbaren Konzentraten aufbereitet sind, können sie auch injiziert werden. Die Injektionslösungen werden jedoch üblicherweise kurz vor der Anwendung hergestellt, indem man die Extrakte oder Konzentrate in wässrigen, flüssigen Medien wie sterilem Wasser, Glucoselösung oder physiologischer Kochsalzlösung auflöst oder suspendiert.

Falls erforderlich, können zu einem Injektionspräparat üblicherweise verwendete Lösungsmittel, Stabilisierungsmittel, Konservierungsmittel und Zusätze für die Herstellung isotonischer Lösungen hinzugegeben werden. Die auf diese Weise erhaltenen Injektions-Präparate werden intravenös, intramuskulär, subkutan oder in einer anderen geeigneten Weise verabreicht.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls pharmazeutische Präparate, welche die Wirkstoffe, bzw. Wirkstoffgemische, und/oder die beschriebenen, spontan dispergierbaren Konzentrate zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen enthalten. Bei den der Erfindung entsprechenden pharmazeutischen Präparaten handelt es sich um solche zur enteralen (wie oralen oder rektalen), sowie zur parenteralen oder topischen Verabreichung

an Warmblüter, welche das spontan dispergierbare Konzentrat allein oder zusammen mit einem pharmazeutisch anwendbaren Trägermaterial enthalten.

Die Dosierung der erfindungsgemässen Konzentrate hängt von der Warmblüterspezies, dem Alter und dem individuellen Zustand, sowie von der Verabreichungsart ab. So werden z.B. zur Erzielung eines Abtötungseffektes von Tumorzellen an Warmblütern mit geringem Körpergewicht, wie z.B. Mäusen, Ratten und Hamstern, bei sukutaner Verabreichung Dosen im Bereich von ca. 0,1 - 50 mg/kg Körpergewicht, und bei intraperitonealer Verabreichung Dosen im Bereich von 0,05 - 5 mg/kg Körpergewicht angewandt.

Die oralen und rektalen Formen der neuen pharmazeutischen Präparate enthalten zwischen 1 - 95 %, vorzugsweise zwischen 10 - 95 %, insbesondere zwischen 20 - 95 % des erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrates. Sie können z.B. in Dosis-Einheitsform vorliegen, also als Dragées, Micropellets, Tabletten, Suppositorien oder Ampullen und vor allem als Kapseln.

Geeignete pharmazeutisch anwendbare Trägerstoffe für die oralen Formen sind hauptsächlich Füllstoffe, wie Zucker (z.B. Lactose, Saccharose, Mannit oder Sorbit), Cellulosepräparate und/oder Calciumphosphate (z.B. Tricalcium- oder Calciumhydrogenphosphat), ferner Bindemittel wie Stärkekleister unter Verwendung von u.a. Mais-, Weizen-, Reis- oder Kartoffelstärke, Gelatine, Traganth, Methylcellulose, Hydroxyl-Methylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und/oder Polyvinylpyrrolidon und/oder Sprengmittel (wenn erwünscht), wie die oben genannten Stärken, ferner Carboxy-methylstärke, quervernetztes Polyvinylpyrrolidon, Agar, Alginsäure oder ein Salz davon, wie z.B. Natriumalginat.

Als Fliessreguliermittel sind z.B. die Polyäthylenglykole Nr. 200 - 600 und höher geeignet.

Die beim Menschen als Darreichungsform bevorzugten Gelatine-kapseln werden mit geeigneten Ueberzügen versehen, wobei man u.a. konzentrierte Zuckerlösungen - welche gegebenenfalls arabischen Gummi, Talk, Polyvinylpyrrolidon, Polyäthylenglykol und/oder Titandioxid enthalten - Lacklösungen (wässrige oder solche, die unter Verwendung organischer Lösungsmittel aufbereitet worden sind), oder magensaft-resistente Ueberzüge aus Lösungen von geeigneten Cellulose-präparaten, wie mikrokristalliner Cellulose (Avicel), Acetylcellulosephthalat, Hydroxymethylcellulose-phthalat oder einem Co-polymerisat wie Eudragit® L 30 D verwendet.

Als erfindungsgemäss besonders geeignete, oral anwendbare pharmazeutische Darreichungsform eignen sich Steck-Kapseln aus Gelatine und einem Weichmacher, wie Glyzerin oder Sorbitol. Die Weich- bzw. Hartgelatine-Kapseln können das erfindungsgemässe, spontan dispergierbare Konzentrat im Gemisch mit Füllstoffen, wie Laktose, Bindemitteln wie Stärke und/ oder Gleitmitteln wie Talk oder Magnesium-Stearat und gegebenenfalls mit Stabilisatoren und Anti-oxydantien wie z.B.  $\alpha$ -Tocopherol enthalten. Der Einsatz von geeigneten Flüssigkeiten wie flüssigen Polyäthylenglykolen No. 200 - 600 als Verdünnungsmittel kann sich empfehlen, wobei sich ebenfalls Stabilisatoren und Anti-oxydantien zufügen lassen.

Zur parenteralen Verabreichung werden die erfindungskonformen Konzentrate mit destilliertem Wasser versetzt. Der entstehenden wässrigen Injektions-Mikroemulsion können viskositätserhöhende Stoffe, wie z.B. Na-Carboxymethylcellulose, Sorbit, Mannit und/oder Dextran, und gegebenenfalls auch Stabilisatoren und Antioxydantien zugefügt werden.

Die pharmazeutischen Präparate für die parenterale Anwendung enthalten vorzugsweise zwischen 0,1 bis 60 %, vorab zwischen 1 bis 40 % des erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrates.

Als topisch anwendbare Präparate, welche sich vornehmlich zur Prophylaxe von Hautkrebsarten eignen, kommen z.B. Crèmen, Salben, Pasten, Schäume, Tinkturen und Lösungen in Betracht, welche zwischen 0,01 bis 70 % des erfindungsgemässen Konzentrates enthalten.

Für Crèmen und Oel-in-Wasser-Emulsionen, welche mehr als 50 % Wasser aufweisen, verwendet man als oelige Grundlage in erster Linie Fettalkohole, z.B. Lauryl-, Cetyl- oder Stearylalkohol, flüssige bis feste Wachse, z.B. Isopropylmyristat, Woll- oder Bienenwachs und/oder Kohlenwasserstoffe wie z.B. Vaseline (Petrolatum) oder Paraffinoel. Zur Emulgierung dieser öligen Grundlagen eignen sich in erster Linie oberflächenaktive, pharmaverträgliche Substanzen mit vorwiegend hydrophilen Eigenschaften, wie z.B. nicht-ionogene Emulgatoren, vorab Fettsäureester von Polyalkoholen oder Äthylen-oxydaddukten (etwa Polyglycerinfettsäureester oder Polyäthylensorbitan-Fettsäureester) mit einem HLB-Wert von unter 8. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Mittel, die die Austrocknung der Crèmen vermindern, z.B. Polyalkohole wie Glycerin, Sorbit, Propylenglykol und/oder Polyäthylenglykole No. 200 - 600, ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Salben sind Wasser-in-Oel Emulsionen, die bis zu 70 %, vorzugsweise jedoch zwischen 20 und 50 % Wasser oder wässrige Phasen enthalten.

Als Fettphase kommen in erster Linie Kohlenwasserstoffe, z.B. Vaseline, Paraffinoel und/oder Hartparaffine in Frage, welche zur Verbesserung des Wasserbindungsvermögens geeignete Hydroxydverbindungen, wie z.B. Fettalkohole oder Ester, davon etwa Cetylalkohol oder Wollwachsalkohole, enthalten.

Fallweise werden noch Emulgatoren mit einem HLB-Wert von 8 bis 16, wie z.B. Sorbitan-Fettsäureester (etwa Sorbitanisostearol) zugesetzt. Zusätze zur Wasserphase sind u.a. Feuchthaltungsmittel, wie Polyalkohole (Glycerin, Propylenglykol, Sorbit

- 28 -

und/oder Polyäthylenglykole No. 200, 400, 600); ferner Konservierungsmittel, Riechstoffe, etc.

Fettsalben sind wasserfrei und enthalten als Grundlage vornehmlich Kohlenwasserstoffe, z.B. Paraffin, Vaseline und/oder flüssige Paraffine; überdies natürliche oder partial synthetische Fette wie z.B. Kokosfettsäuretriglycerid, ferner: Fettsäurepartialester des Glycerins, wie z.B. die im Zusammenhang mit den Salben erwähnten, die Wasseraufnahmefähigkeit steigernden Fettalkohole, Emulgatoren und/oder Zusätze.

Pasten sind Crèmen und Salben mit sekretabsorbierenden Puderbestandteilen, wie beispielsweise Metalloxide (etwa Titanoxid oder Zinkoxid), ferner Talk und/oder Aluminiumsilikate, welche die Aufgabe haben, vorhandene Feuchtigkeit oder Sekrete zu binden.

Schäume werden aus Druckbehältern verabreicht und sind in Aerosolform vorliegende Öl-in-Wasser Emulsionen der erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Konzentrate, wobei halogenierte Kohlenwasserstoffe (wie z.B. Chlorfluorniederalkane: etwa Dichlordifluormethan und Dichlortetrafluoräthan) als Treibmittel verwendet werden. Dazu kommen gegebenenfalls die üblichen Zusätze wie Konservierungsmittel, usw.

## Verfahrensbeispiele zur Herstellung der erfindungsgemässen Sterolester und Sterolphosphatide

---

### 1. Herstellung von Ergosta-5,7,22-trien-3-ol-dodecenoat

---

2 g Dodecenylsäure und 1,8 g Thionylchlorid werden in 300 ml Tetrahydrofuran während 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Anschließend werden 150 ml Tetrahydrofuran abdestilliert und 3,97 g Ergosterol (= Ergosta-5,7,22-trien-3-ol) und 0,5 g Dimethylformamid zugesetzt.

Nach zweistündiger Erhitzung bei 70 °C wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wird in Acetonitril/Aceton (50/50) umkristallisiert.

Man erhält das reine Ergosteroldodecenoat mit einem Schmelzpunkt von 86,6 - 91,1 °C.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt:

Ergosterolcrotonat	Smp: 150 - 151,6 °C
Ergosterolcapryloat	Smp: 97,9 °C
Ergosterolundecenoat	Smp: 75,8 - 76,2 °C
Ergosterollaurat	Smp: 86,5 °C
Ergosterolpalmitat	Smp: 99,5 °C
Ergosterololeat	Smp: 86,3 - 95,7 °C
Ergosterollinoleat	Smp: 89,8 - 91,2 °C
	UV: 253,0 nm

BI (Brechungsindex) = RI (Refractory Index), gemessen am DUR-Refractometer Schmidt + Haensch, Berlin.

### 2. Herstellung von Stigmasterol-all-trans-Retinat

---

Zu 600 mg all-trans-Retinsäure und 50 mg Dimethylformamid in 70 ml Toluol werden bei 5 °C 360 mg Oxalylchlorid in 30 ml

- 30 -

Toluol zugetropft. Nach 4 Std. bei 20 °C wird die Hälfte des Lösungsmittels am Vakuum abdestilliert.

Zur Restlösung werden 650 mg Stigmasterol und 50 mg p-Dimethylaminopyridin in 30 ml Toluol zugegeben. Die Reaktionslösung wird während 2 Std. am Rückfluss bei 100 - 110 °C erwärmt. Anschliessend wird das Lösungsmittel durch Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wird auf einer Silicagelsäule mit Hexan/Essigester (9:1) chromatographiert.

Man erhält das reine Stigmasterol-all-trans-Retinat mit einem Schmelzpunkt von 89 °C, UV-Absorption 358,5 nm.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen hergestellt, welche die Eigenschaften von Fettkristallen haben, d.h. dass der Schmelzbereich meist unbestimmbar ist:

Ergosterol-all-trans-Retinat	UV: 354,0/264,0 nm
β-Sitosterol-all-trans-Retinat	UV: 344,5 nm
Cholesterol-all-trans-Retinat	UV: 354,5 nm
Stigmasterol-13-cis-Retinat	UV: 348,0 nm
Ergosterol-13-cis-Retinat	UV: 346,0 nm
β-Sitosterol-13-cis-Retinat	UV: 368,5 nm
Cholesterol-13-cis-Retinat	UV: 345,5 nm
Ergosterol-Linolenat	UV: 252,2 nm
Stigmasterol-Arachidonat	UV: 251,8 nm
	BI: 1.51320 / 20 °C

NMR-analytische Daten zu Ergosterol-all trans-Retinat gibt Zeichnung 1/2 wieder. Vgl. die technische Beilage.

### 3. Herstellung von Stigmasterol-Azafrinat

---

Zu 80 mg Azafrin [Verbindung wie Formel XXI; Herstellung vgl. Helv.Chim.Acta 58 (1975) 1722-1727 und Helv.Chim.Acta 65 (1982) 353-354] in 50 ml Chloroform werden 65 mg N,N'-Carbo-nyldiimidazol zugesetzt. Man lässt die Reaktionslösung wäh- rend 12 Std. bei 20 °C stehen und setzt dann 40 mg Stigma- sterol zu.

Nach weiteren 12 Std. bei 30 °C wird das Lösungsmittel abde- stilliert und der Rückstand in 50 ml Essigester aufgenommen. Diese Lösung schüttelt man einmal mit 1/10 N Salzsäure und einmal mit 1/10 N Natronlauge aus. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand auf einer Silicagelsäule mit Hexan/Essigester (9:1) als Eluiermittel chromatographiert. Man erhält das Stigmasterol-Azafrinat, mit einer UV-Absorption bei 429,5 nm.

Auf gleichartige Weise werden auch folgende Verbindungen her- gestellt, charakterisiert durch den Brechungsindex  $n_D$  20°C (BI), bzw. die UV-Absorptions-Maxima :

Ergosterol-Azafrinat	UV: 425,6 nm
$\beta$ -Oestradiol-3,17-Diundecenoat	BI 1,4816
	UV 232,8/276,0 nm
$\beta$ -Oestradiol-3,17-Dioleat	BI 1,5058
	UV 232,0/280,0 nm
$\beta$ -Oestradiol-3,17-Diretinat	UV 354,5/371,0 nm
$\beta$ -Oestradiol-3-Benzoat-17-Undecenoat	UV 247,6 nm
$\beta$ -Oestradiol-3-Benzoat-17-Retinat	UV 354,5 nm

#### 4. Herstellung von Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycerophosphat und -thiophosphat

---

1,2-Dipalmitoyl-glycero-3-H-phosphonat-Triaethylammoniumsalz wird genau nach der Vorschrift von I. Lindth und J. Stawinski in J.Org.Chem. 54, 1338-1342 (1989) ["Synthesis of Glycero-phospholipids and their Analogues via H-Phosphonate Intermediates"] hergestellt. Auf die chromatographische Zwischenreinigung des Reaktionsproduktes wird verzichtet; das Rohprodukt wird demnach unmittelbar in der nächsten Stufe eingesetzt.

600 mg Rohprodukt und 600 mg Stigmasterol werden in 15 ml Pyridin gelöst und im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand wird erneut in 15 ml Pyridin gelöst, und unter Rühren werden 0,2 ml Pivaloylchlorid zugegeben. Die Reaktionslösung wird unter Feuchtigkeitsausschluss bei Raumtemperatur 30 Min. gerührt.

Dann werden noch 0,1 ml Pivaloylchlorid zugefügt, und anschliessend wird nochmals 30 Min. gerührt.

Die Reaktionslösung wird in zwei Teile geteilt:

Zur einen Hälfte der Lösung werden unter Rühren 150 mg Jod in 2 ml Pyridin-Wasser 98:2 gegeben. Nach 30 Min. Rühren bei 20 °C wird das Reaktionsgemisch in 50 ml Chloroform aufgenommen. Die Lösung wird mit 20 ml 5% Na-Bisulfitlösung und zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit 50 ml Chloroform zurückgewaschen und die vereinigten Chloroform-phasen im Vakuum zur Trockene eingedampft.

Zur anderen Hälfte der Lösung werden 150 mg Schwefel in 2 ml Pyridin-Toluol 1:1 gegeben. Die Lösung wird 3 Std. bei 20 °C gerührt, in 50 ml Chloroform gelöst, zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene eingedampft.

- 33 -

Die beiden Rohprodukte werden an je 15 g Silicagel mit Chloroform/Hexan 2:1 und 8:1 chromatographiert. Es werden Fraktionen zu 20 ml aufgefangen und im D.C. (Laufmittel Chloroform) untersucht. Die Fraktionen, welche im wesentlichen reines Produkt enthalten, werden im Vakuum zur Trockene gebracht.

Man erhält:

das Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycerphosphatid mit einem Schmelzpunkt von 171,6 °C und

das Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid mit einem Schmelzpunkt von 168 °C.

Die Zeichnung 2/2 zeigt den Schmelzbereich für die beiden Verbindungen auf. Vgl. die technische Beilage.

#### 5. Verfahren zur Herstellung von Ergosterol-3-Ret inolphosphonat

---

##### a) Verfahren zur Herstellung von Ergosterol-3-Hydrogenphosphonat

Eine Lösung von 3,6 g Imidazol in 100 ml wasserfreiem Acetonitril wird unter Feuchtigkeitsabschluss im Eiswasserbad gekühlt. Unter Rühren werden innert 10 Min. 1,4 ml Phosphortrichlorid und anschliessend innert 15 Min. 7,8 ml Triäthylamin zugetropft. Das Gemisch wird während 15 Min. gerührt; dann gibt man unter weiterer Eiskühlung über 30 Min. eine Lösung von 1,5 g Ergosterol in 100 ml Acetonitril zu.

Das Eisbad wird entfernt und das Gemisch 4 Std. lang bei Zimmertemperatur gerührt. Dann werden 25 ml Wasser zugesetzt und noch 30 Min. gerührt.

Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum zur Trockene eingedampft; zum Rückstand fügt man 100 ml Pyridin-Triäthylamin 4:1 zu und dampft weiter ein.

Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform gelöst, die Lö-

- 34 -

sung 3 Mal mit 50 ml Wasser gewaschen, im Vakuum zur Trockene eingedampft und im Vakuumtrockenschrank bei 50 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Produkt: 3,0 g, wird ohne weitere Reinigung für die folgenden Reaktionsschritte verwendet.

b) Ergosterol-3-Ret inol-Phosphonat.

1,2 g rohes Ergosterol-Hydrogenphosphonat und 0,8 g Retinol (Vitamin-A-Alkohol) werden in 15 ml Pyridin gelöst. Unter Rühren werden 0,3 ml Pivaloylchlorid zuge tropft, 5 Min. gerührt, nochmals 0,3 ml Pivaloylchlorid zugefügt und weitere 10 Min gerührt.

Zum Reaktionsgemisch werden 25 ml Wasser und 5 ml gesättigte Na-Bicarbonatlösung zugefügt und das Ganze mit 50 ml Chloroform extrahiert.

Die Chloroformphase wird abgetrennt, 2 Mal mit je 25 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene gebracht.

Man erhält das ERGOSTEROL-3-RETINOL-PHOSPHONAT.

Rf.-Wert in Hexan/Essigester 80:20 : 0,97.

Auf gleiche Weise lassen sich herstellen:

ERGOSTEROL-3-GERANYL-PHOSPHONAT

ERGOSTEROL-3-FARNESYL-PHOSPHONAT

## 6. Herstellung von Ergosterol-3-Geranylphosphothioat.

---

1,2 g rohes Ergosterol-Hydrogenphosphonat (vgl. 5 a) und 0,5 ml Geraniol werden in 15 ml Pyridin gelöst. Unter Rühren werden 0,3 ml Pivaloylchlorid zugetropft, 5 Min. gerührt, nochmals 0,3 ml Pivaloylchlorid zugetropft und weitere 10 Min. gerührt. Zum Reaktionsgemisch werden 0,1 g Schwefel in 2 ml Toluol-Pyridin 1:1 gefügt und das Ganze 2 Std. bei Raumtemperatur gerührt.

Das Reaktionsgemisch wird in 50 ml Chloroform gelöst, 2 Mal mit je 25 ml Wasser gewaschen und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird an 50 g Silicagel mit Hexan-Essigester 9:1, 8:2 und 5:5 chromatographiert

- 35 -

(je 200 ml). Man fängt Fraktionen zu 25 ml auf, die mittels Dünnschicht-Chromatographie (Laufmittel Hexan/Essigester 8:2) analysiert werden.

Jene Fraktionen, welche im Wesentlichen das reine Produkt enthielten, wurden vereinigt, im Vakuum zur Trockene eingedampft und im Vakuumtrockenschrank bei 50 °C zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Man erhält 0,45 g ERGOSTEROL-3-GERANYL-PHOSPHOTHIOAT  
Rf.-Wert Hexan/Essigester 80:20 : 0.98

Auf gleiche Weise lässt sich das  
ERGOSTEROL-3-FARNESYL-PHOSPHOTHIOAT  
herstellen.

- 36 -

Rf.-Werte von erfindungsgemässen Verbindungen, welche nach den Verfahrensbeispielen 1 bis 4 hergestellt worden sind:

1 %-Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, bandförmig aufgetragen 2 cm/2µl  
 Linomat III CAMAC 10cm run  
 UV 366 nach 1:1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH 2 min. 120°C

SYSTEM	1	2	3	4	5	6	7
VERBINDUNG							
C 8:0 ERGO	--	0,17	0,32	0,77	--	0,81	--
C 12:0 ERGO	0,06	0,14	0,29	0,73	0,89	0,74	0,57
C 16:0 ERGO	0,07	0,16	0,32	0,75	0,92	0,82	0,58
C 18:1 ERGO	0,08	0,18	0,35	0,80	0,92	--	0,63
ERGO-RETINAT	0,07 0,11	0,17 0,23	0,38 0,42	0,00 --	0,91 --	0,87 --	0,65 0,73
C 11:1 β-Oestradiol-doppelester	0,00 --	0,00 --	0,04 --	0,18 0,56	0,71 0,81	0,29 --	0,07 0,41

Erklärung:

System 1 Platte Merck Art. 5715 Petrolaether/Diethylaether 98:2  
 System 2 " " " 97:3  
 System 3 " Cyclohexan/Ethylacetat 97:3  
 System 4 Platte Macherey Nagel RP 18 Art. 811'071  
 Petrolaether/Diethylaether 95:5  
 System 5 " n Hexan/t. Butylmethylaether/Aceton 90:5:5  
 System 6 " Petrolaether/Cyclohexan/Ethylacetat/H<sub>2</sub>O 48:48:3:1  
 System 7 " Petrolaether/Diethylaether 97:3

- 37 -

## Rf.- W E R T E      FORTSETZUNG

System	1	2	3	4	5
Verbindung					
C 18:2 ERGO	0,76 0,59	0,39 0,25-0,50	0,60 0,50	0,92	0,79 0,60-0,61
C 18:3 ERGO	0,78 0,59-0,61	0,40 0,25	0,65 0,50-0,55	0,92	0,80 0,60-0,65
$\beta$ -Oestradiol-3,17- DI-UNDECENOAT	0,38	0,10	0,15	0,75	0,30
$\beta$ -Oestradiol-3.17- DI-OLEAT	0,42	0,22	0,20	0,83	0,38

ERKLÄRUNG:

SYSTEM 1 Platte RP 18 MN

Petrolaether/Cyclohexan/EtAc/H<sub>2</sub>O  
48:48:3:1

SYSTEM 2      "      SM

Cyclohexan/Ethylacetat 97:3

SYSTEM 3      "      SM

Petrolaether/Diaethyleather 97:3

SYSTEM 4      "      RP 18w MN

Hexan/t.BME/Acetonitril 90:5:5

SYSTEM 5      "      RP 18w MN

Petrolaether/Diaethylaether 95:5

N-B.:    SM    Platte Merck Art. No. 5715

RP18 MN(w) Art. Macherey Nagel Nr. 811'071

Rf.-Werte mit Normalchromatographie Hexan/Essigester 90:10 :

$\beta$ -Oestradiol-Diundecenoat	0,37
$\beta$ -Oestradiol-Dioleat	0,48
Ergosterol-all trans-Retinat	0,88
Ergosterol-Linoleat	0,64 / 0,82
Ergosterol-Linolenat	0,64 / 0,96
Stigmasterol-Glycero-Phosphatid	0,88
Stigmasterol-Glycero-Thiophosphatid	0,94

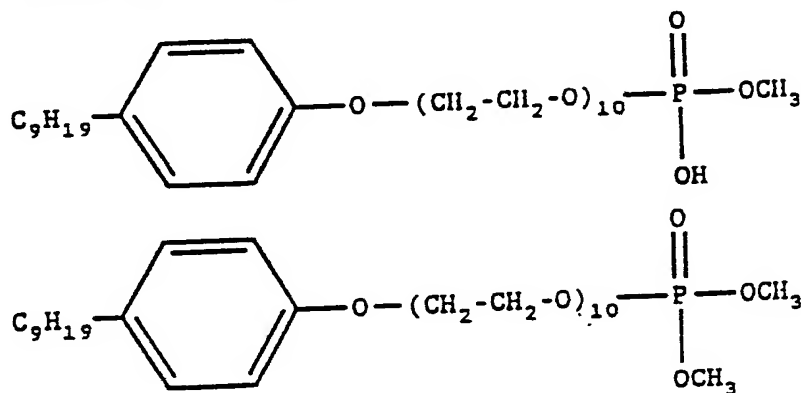
Platte Merck Art. No. 5715

- 38 -

Zusammensetzungsbeispiele von erfindungsgemässen, spontan dispergierbaren Mitteln, welche als antitumorale Wirkstoffe Sterolester und/oder Sterolphosphorverbindungen gemäss den Formeln I bis XXX enthalten.

- a) 7,5 bis 25 Gewichts-% eines oder mehrerer Sterolester und/oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln I bis XV  
 0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol® 812 (Dynamit-Nobel)  
 22,5 bis 40 Gewichts-% Diphasol® 3873 (CIBA-GEIGY)  
 22,5 bis 40 Gewichts-% Invadin® JFC 800 % (CIBA-GEIGY)
- b) 7,5 bis 25 Gewichts-% eines oder mehrerer Sterolester und/oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln I bis XV  
 0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat oder Miglyol® 812 (Dynamit Nobel)  
 22,5 bis 40 Gewichts-% Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY)  
 22,5 bis 40 Gewichts-% Soprophor® FL (Rhône-Poulenc)

Miglyol® 812-Neutralöl ist ein Neutralöl (Oleum neutrale) der Firma Dynamit-Nobel, das einem gemischtsäurigen Triglycerid der fraktionierten Kokosfettsäuren C<sub>8</sub> bis C<sub>10</sub> entspricht. Diphasol® 3873 ist ein Mischemulgator, bestehend aus je 50 % der beiden Verbindungen mit den Formeln:



Invadin® JFC 800% (CIBA-GEIGY) ist ein tert. Octylphenyl-polyoxyäthylenaether mit 9 bis 10 Oxyäthylengruppen.

- 39 -

Soprophor® FL (Rhône-Poulenc) ist ein Tristyrylphenol-poly-oxyäthylen-18-mono/dimethyl-Phosphorsäureester.

Zeichnungen (Vgl. die technische Beilage)

---

1/2 : NMR-Messdaten für ERGOSTEROL-all trans-RETINAT

2/2 : DSC-Messdaten für die Stigmasterol-Phosphatide.

## Biologische Prüfungen.

Die antitumorale Wirkung von spontan dispergierbaren Konzentrat-  
traten mit Wirkstoffen gemäss den Aufarbeitungsbeispielen No.  
1 - 6 wird anhand folgender Prüfungsergebnisse bestätigt:

### In vitro-Tests mit geeigneten Tumorzell-Linien

Es wurde ein biologisches Assay-System entwickelt, das mit  
Mikrotiterplatten und Verdünnungsreihen arbeitet. Angesetzt  
werden je  $10^4$ /ml Tumorzellen in Kulturmedium RPMI 1640 mit  
10 % fötalem Kalbserum inaktiviert (GIBCO); sie werden so un-  
dicht ausgesät, dass sie während des Assays wachsen können,  
in sog. nichtkonfluenten Monolayers. Die Probenzugabe erfolgt  
nach 6 - 24 Stunden, mit 100  $\mu$ l pro Reihe, die man im 1. Loch  
mit 100  $\mu$ l Medium versetzt. Davon wird die Hälfte entnommen  
und in das folgende Loch eingebracht, wieder mit 100  $\mu$ l Me-  
dium versetzt, usf. Es entsteht eine geometrische Verdün-  
nungsreihe  $n_{\frac{1}{2}}$ .

Die Proben werden im Plaque Assay während 3-5 Tagen bei 37° C  
mit  $3\frac{1}{2}$  % CO<sub>2</sub> inkubiert. Anschliessend färben/fixieren mit  
0,1 % Kristallviolett (Fluka, Buchs) in einer Lösung von 70 %  
Methanol, 1 % Formaldehyd, 29 % Wasser. Die Auswertung wird  
am Mikroskop vorgenommen, Vergrösserung 300-fach. Man be-  
stimmt die grösste cytotoxische Verdünnung. Die quantitative  
Auswertung lässt sich auch mittels Scanning und  
Absorptionsmessung am Spektrophotometer vornehmen.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Tumorlinie Präparat	TSA (Murines Adenocarcinom) In Verdünnung wirksam bis 1 :	
C 18:2 ERGOSTEROL STIGMA-AZAFRINAT	16 h	40 h
	2'000'000 28'600'000	16'000'000 28'600'000
ERGOSTEROL-all trans-RETINAT	800'000	1'600'000
STIGMASTEROL-GLYCERO- PHOSPHATID	400'000	1'600'000
STIGMASTEROL-GLYCERO- THIOPHOSPHATID	10'000'000	20'000'000
β-OESTRADIOL- 3,17-OLEAT	20'000'000	40'000'000

T S A : murines Adenocarcinom (spontanes Mamacarcinom)  
Prof. Guido Forni, Istituto di Microbiologia,  
Università di Torino, Scuola di Medicina

Die Ueberprüfung der Wirkung dieser spontan emulgierbaren  
Konzentrate mit einem Gehalt von 1000 ppm C 18:2-ERGOSTEROL-  
Wirkstoff an humanen Leucocyten ergab folgende Werte:

Verdünnung	24 h	4 Tage	5 Tage
1 : 20	alle Zellen tot	alle Z. lysiert	--
1 : 80	alle Zellen tot	"	--
1 : 200	RBC lysiert Leucocyten i.O.	RBC lysiert Leucocyten lysiert	--
1 : 400	RBC lysiert Leucocyten i.O.	alle Zellen lysiert	--
1: 1'000	alle Z. i.O.	Leucocyten i.O.	Leucocyten i.O.
1: 5'000	"	"	"
1:20'000	"	"	"

N.B.: RBC steht für "Red blood cells", Erythrocyten, rote  
Blutkörperchen.

### Leberschranke

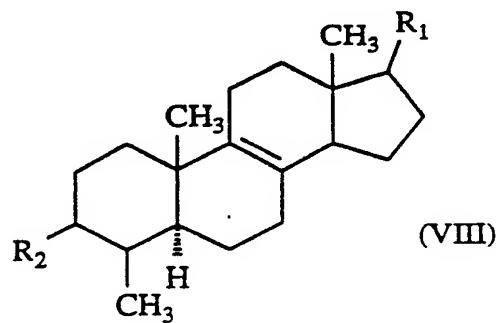
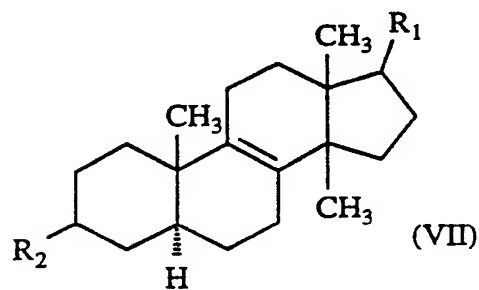
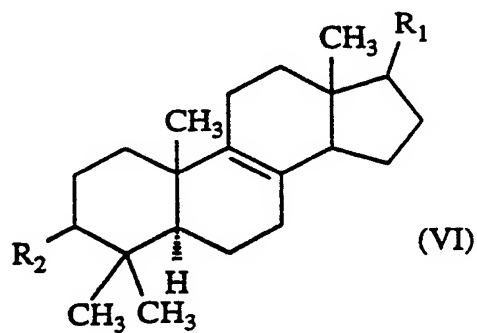
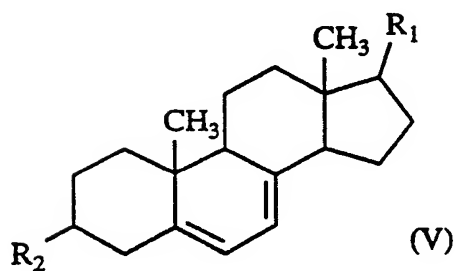
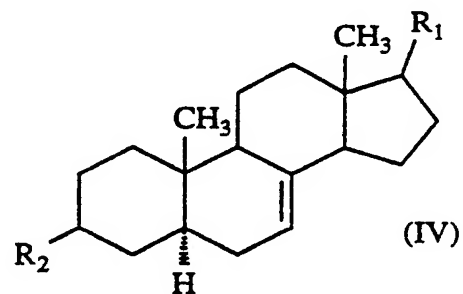
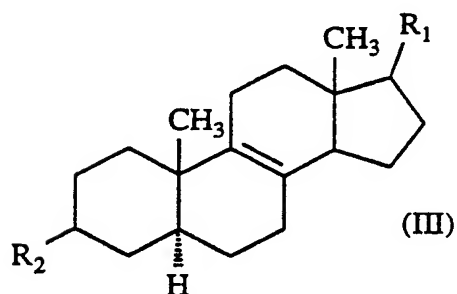
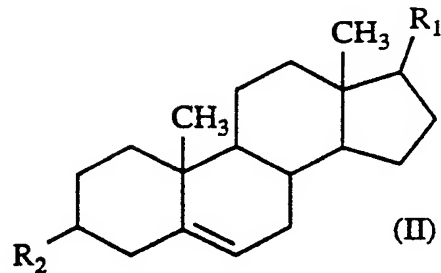
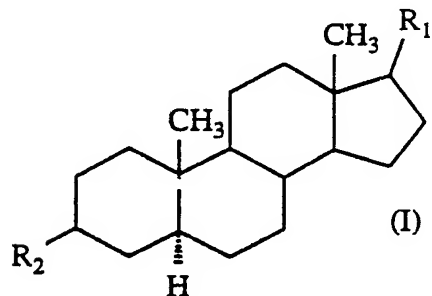
---

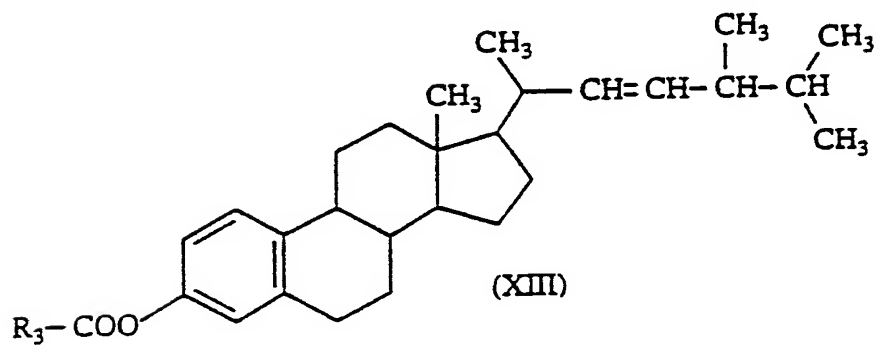
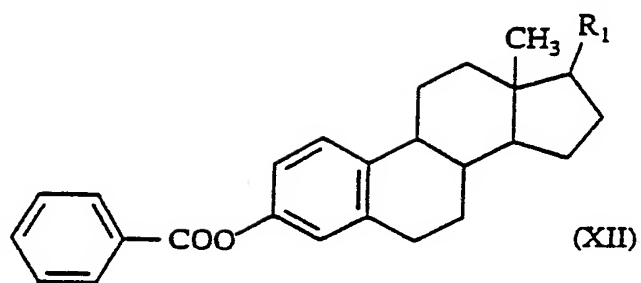
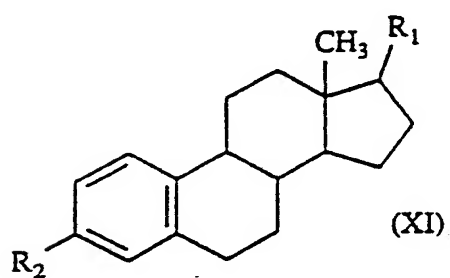
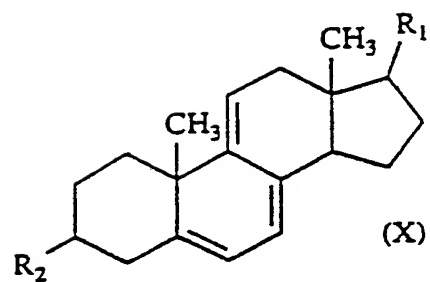
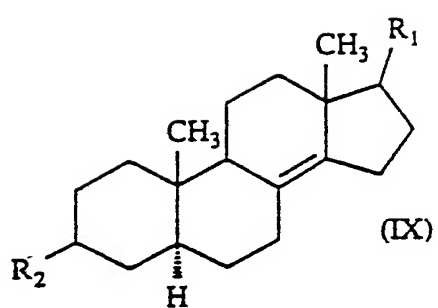
Die Prüfung wurde an der perfundierten, in situ belassenen Rattenleber vorgenommen. Eingesetzt wurden die beiden Präparate Ergosterol-Undecenoat und Ergosterol-all trans-Retinat und zwar in Form von 2%-Konzentraten, verdünnt 1:10, 1:100 und 1:1000. Die Arbeiten wurden in verdankenswerter Weise vom Institut für klinische Pharmakologie der Universität Bern (Prof. Dr. R. Preisig) durchgeführt. Die analytische Auswertung geschah mittels Kapillar-Electrophorese (20 kV konstant) mit einem Gerät von Beckman Instruments (P/ACE System 2000 Version 1.50).

Ergebnis: Die Wirksubstanzen passieren, auch in der höchsten geprüften Konzentration, innerhalb von je 20 Minuten die hepatische Barrière vollständig.

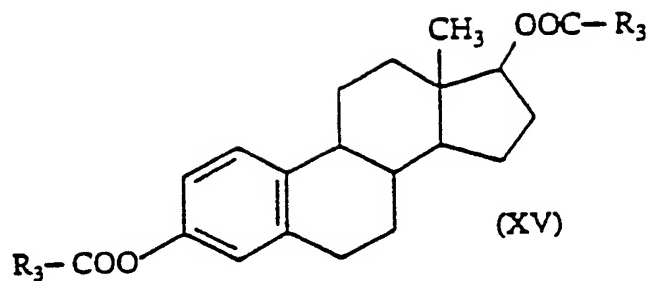
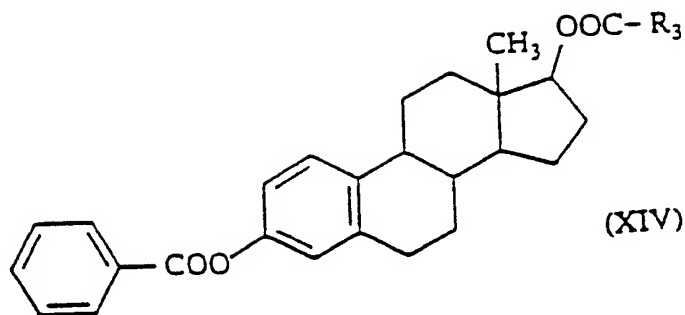
## P A T E N T A N S P R U E C H E

1) Sterolester, bzw. Sterolphosphatide der Formeln (I) bis (XV) :

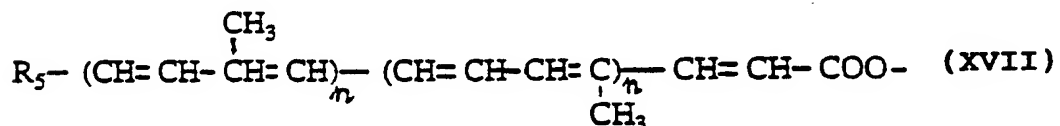
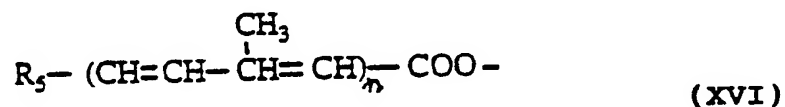




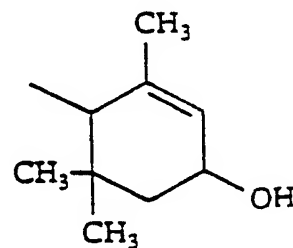
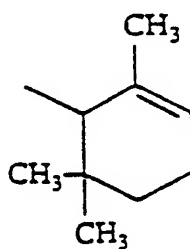
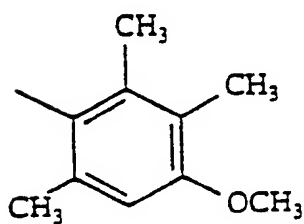
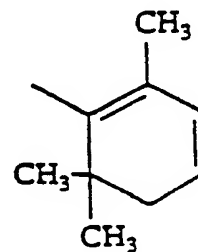
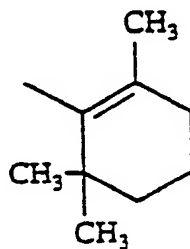
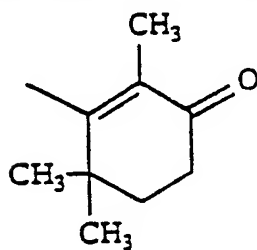
- 45 -

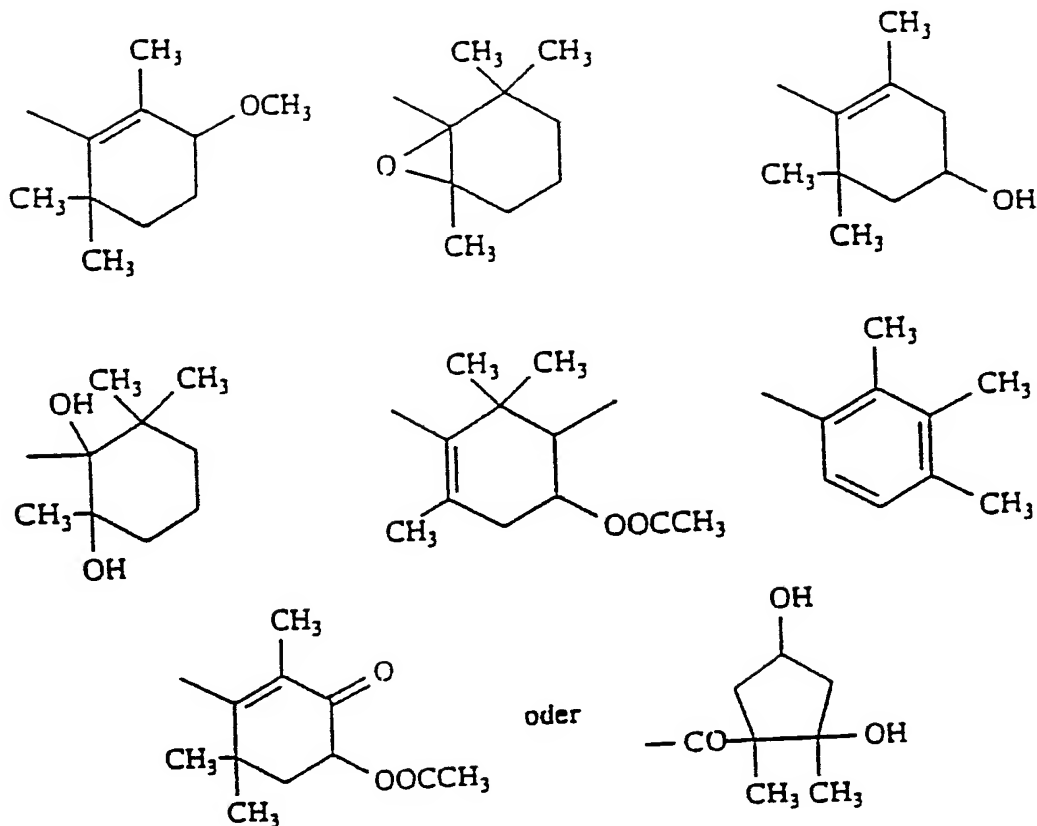


wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$  bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe und das Radikal  $R_2$  in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) und (XVII) ist:

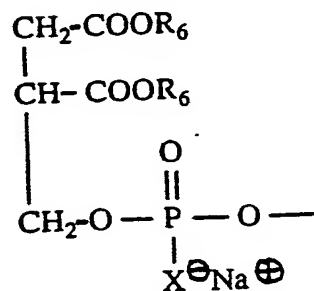


worin  $n$  die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und  $R_5$  für die Radikale der Formeln

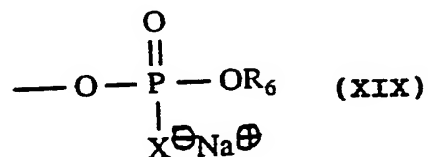




steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) oder (XIX) darstellt:



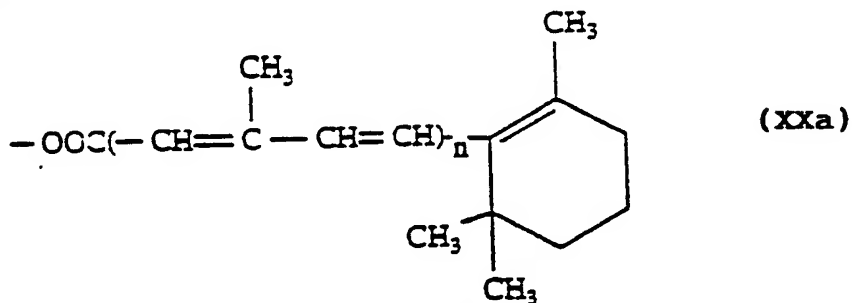
(XVIII)



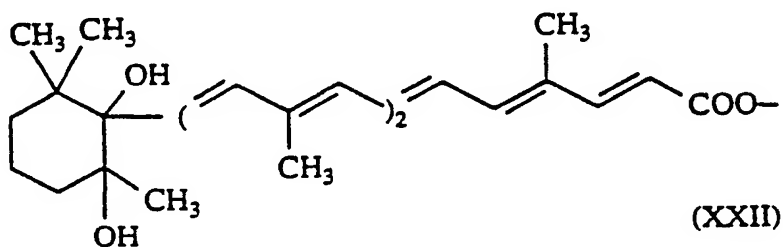
in welchen R<sub>6</sub> eine C<sub>1</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei R<sub>3</sub> in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkylgruppe oder eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub> Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alka-hexaene oder Alkaheptaene) steht.

- 47 -

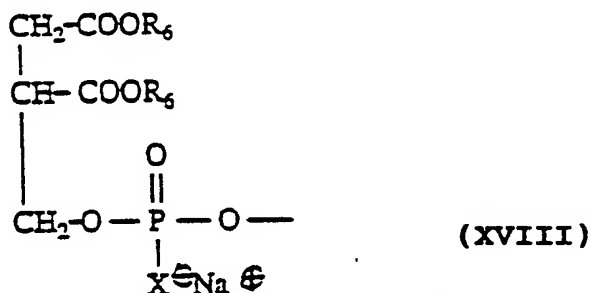
- 2) Eine Verbindung gemäss Anspruch 1, wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$  bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe bedeutet und das Radikal  $R_2$  in den Formeln (I) bis (XII) für eine Verbindung der Formel (XXa) steht:



worin  $n$  die Zahlen 1, 2, 3 oder 4 meint oder die Verbindung (XXII) bezeichnet:



oder aber die Gruppe gemäss Formel (XVIII) meint:

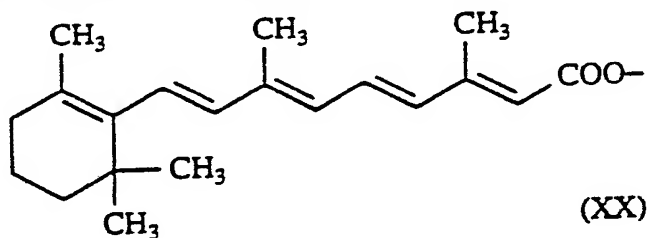


in welcher  $R_6$  eine  $C_1$  bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$  bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe ist,  $X$  Sauerstoff oder Schwefel darstellt, und wobei zudem  $R_3$  in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_4$  bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

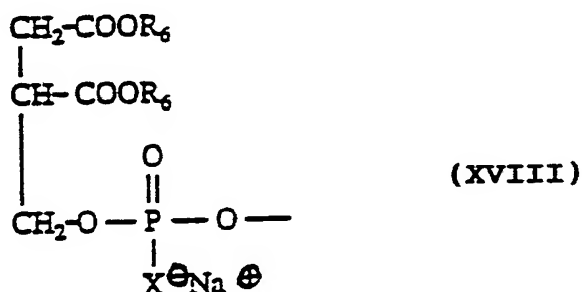
- 3) Eine Verbindung gemäss Anspruch 2, wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal  $R_1$  eine  $C_8$  bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_8$

- 48 -

bis C<sub>10</sub>-Alkenylgruppe bedeutet, das Radikal R<sub>2</sub> in den Formeln (I) bis (XII) für eine Verbindung der Formel (XX)



steht oder die Gruppe der Formel (XVIII) bezeichnet:



worin R<sub>6</sub> eine C<sub>4</sub> bis C<sub>22</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>4</sub> bis C<sub>22</sub>-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe ist, X Sauerstoff oder Schwefel darstellt, und wobei zudem R<sub>3</sub> in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine C<sub>4</sub> bis C<sub>22</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>4</sub> bis C<sub>22</sub>-Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht.

4) Die Verbindungen:

Stigmasterol-all-trans-retinat

Stigmasterol-13-cis-retinat

Ergosterol-all-trans-retinat

Ergosterol-13-cis-retinat

Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid

Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid

Ergosterolcrotonat

Ergosterolcaproylat

Ergosterolundecenoat

Ergosterollaurat

Ergosteroldodecenoat

Ergosterolpalmitat

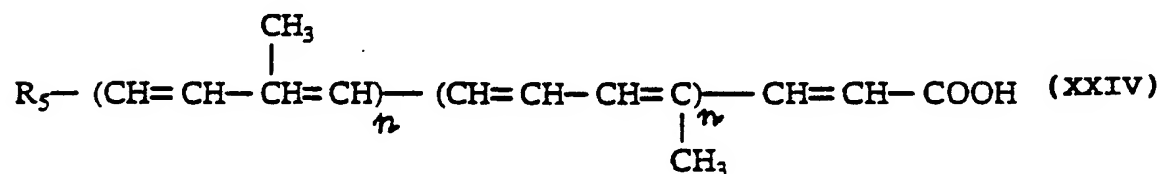
Ergosterololeat

- 49 -

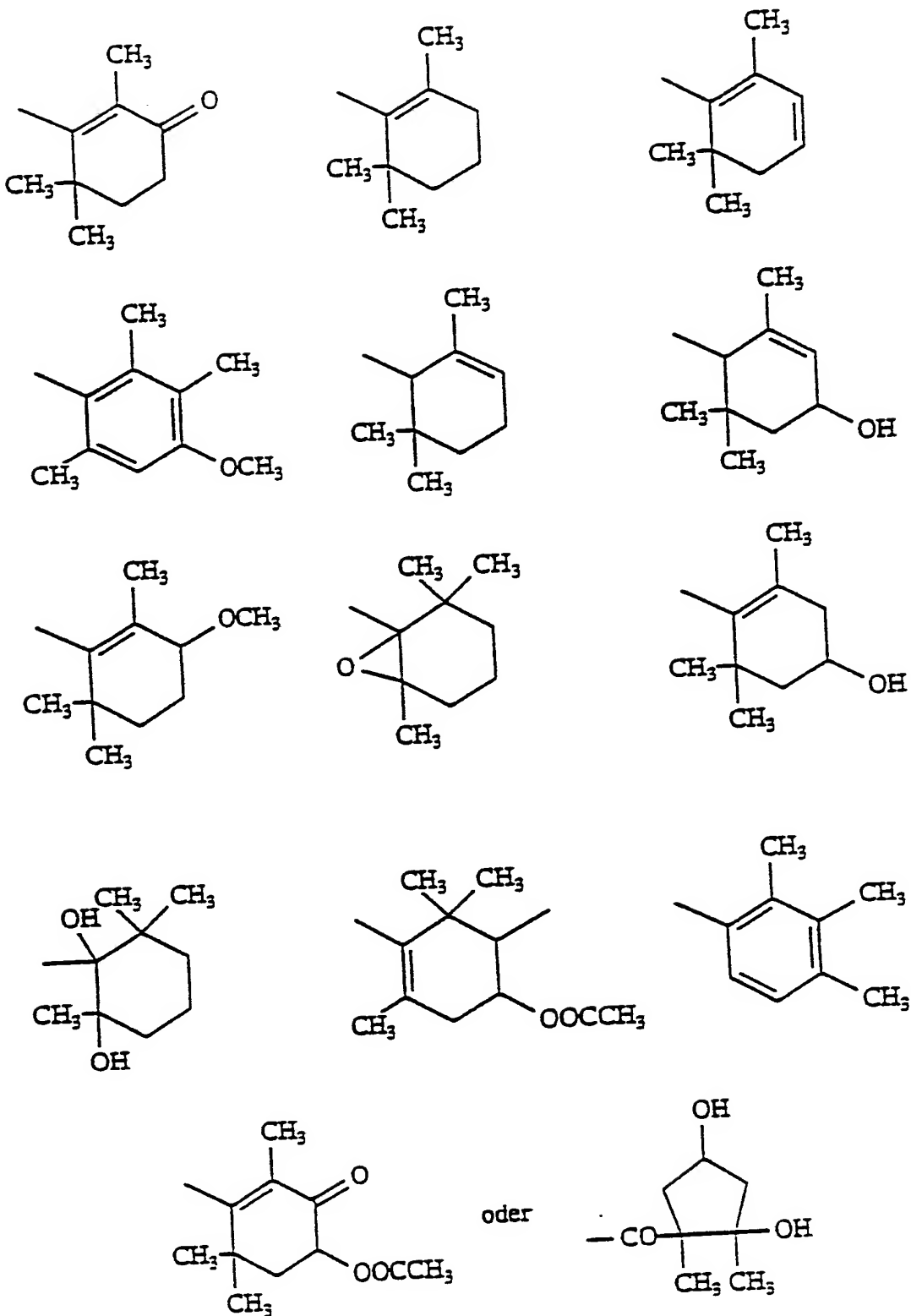
Ergosterollinoleat  
 Ergosterollinolenat  
 Ergosterol-3-retinylphosphonat  
 Ergosterol-3-geranylphosphonat  
 Ergosterol-3-farnesylphosphonat  
 Ergosterol-3-geranylphosphothioat  
 Ergosterol-3-farnesylphosphothioat  
 Ergosterol-Batyl-Cholin-bis-Phosphorsäureester  
 Ergosterol-Batyl-bis-Phosphothioat  
 Oestradiol-3,17-diundecenoat  
 Oestradiol-3,17-dioleat  
 Oestradiol-3,17-diretinat  
 Oestradiol-3-benzoat-17-undecenoat  
 Oestradiol-3-benzoat-17-retinat

gemäss Anspruch 3.

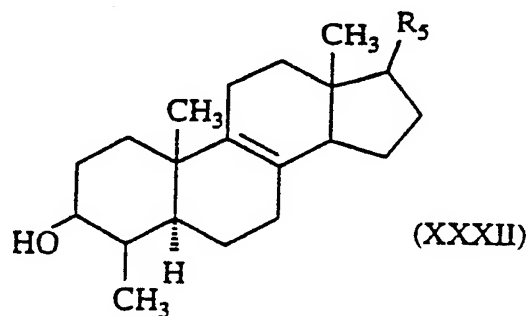
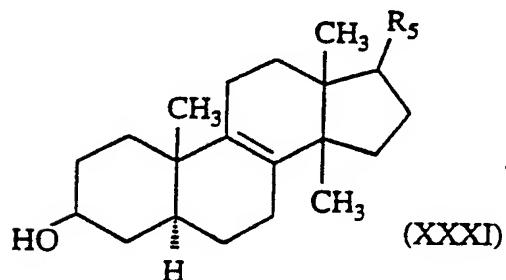
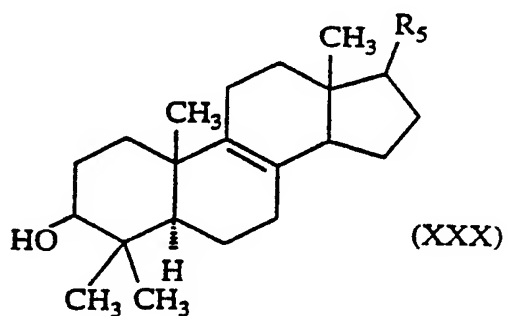
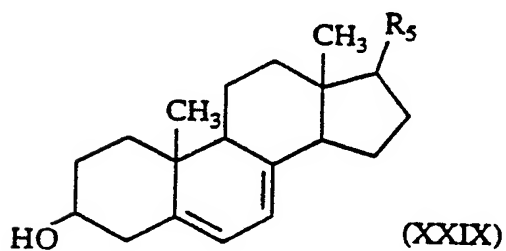
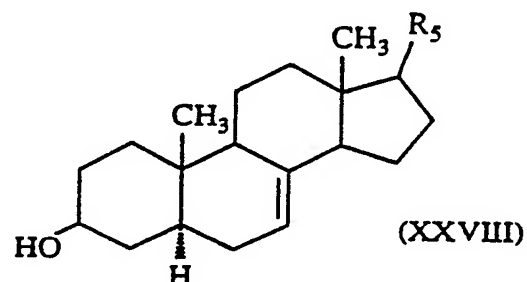
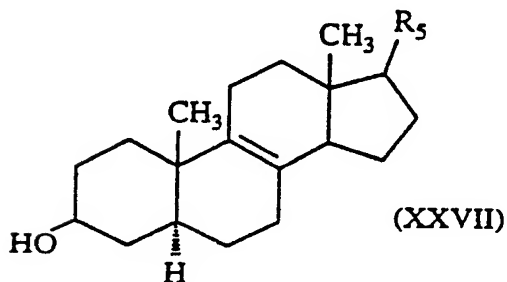
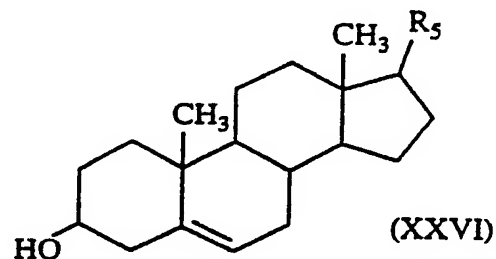
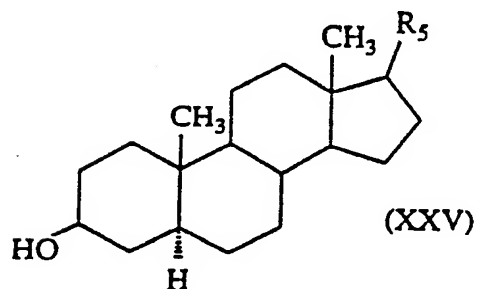
- 5) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formeln (XXIII), bzw. (XXIV) :

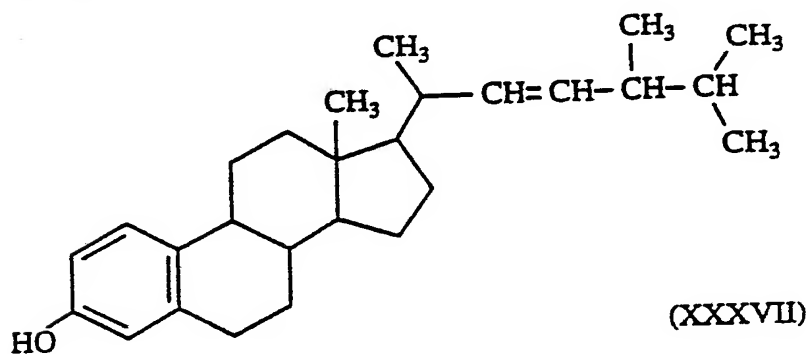
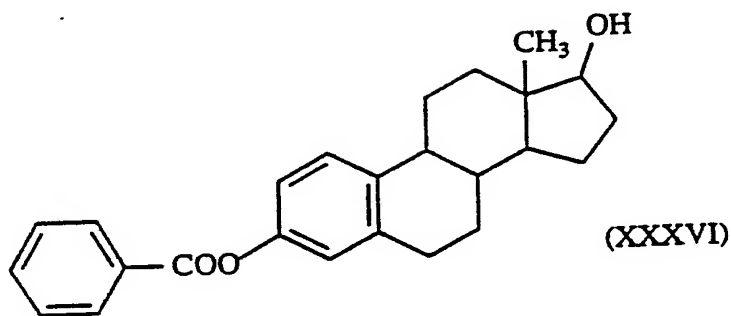
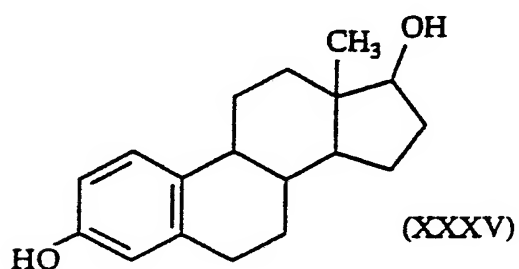
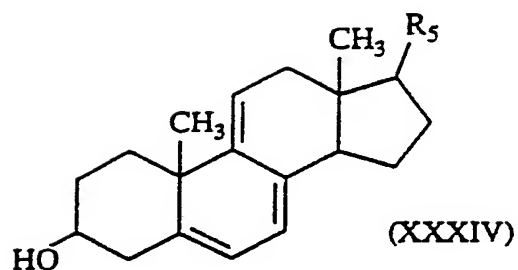
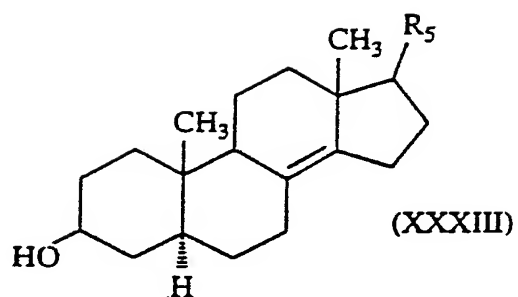


worin n die Zahlen 1,2,3,4 oder 5 bedeutet und R<sub>5</sub> für die Radikale der folgenden Formeln:



steht, mit N,N'-Carbonyldiimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem indifferenten Lösungsmittel umgesetzt und anschließend das entstandene Imidazolat mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) :



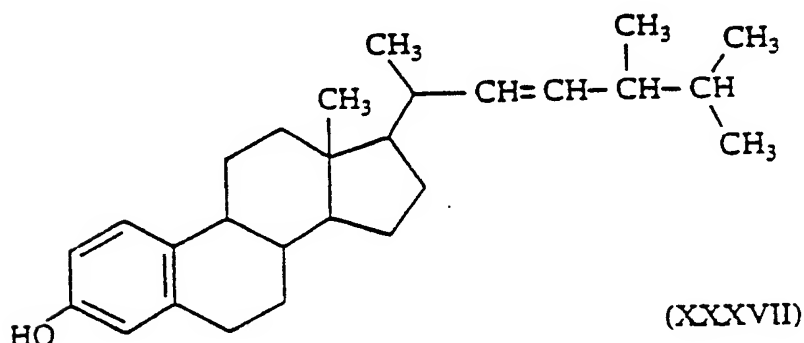
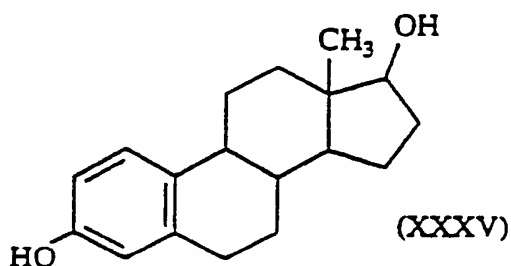


in welchen das Radikal R<sub>5</sub> für eine C<sub>1</sub> bis C<sub>10</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>10</sub>-Alkenylgruppe steht, reagieren lässt.

- 6) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel XXIII gemäss Anspruch 5 mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) gemäss Anspruch 5 bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysatoren umsetzt.
- 7) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (XIII), (XIV) oder (XV) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVI) :

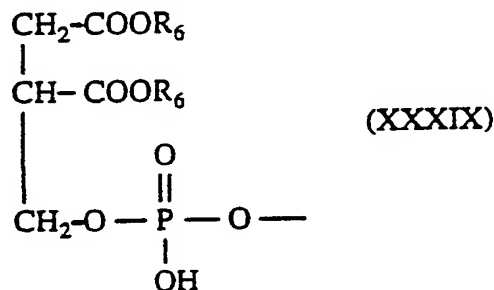


worin R<sub>7</sub> eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem der Sterole der Formeln (XXXV) oder (XXXVII) :



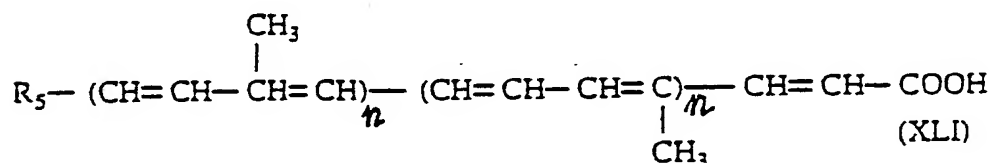
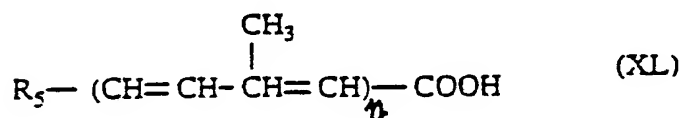
bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysators umgesetzt.

- 8) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XII) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXIX) :



worin R<sub>6</sub> eine C<sub>1</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, in einem inerten Lösungsmittel mit Pivaloylchlorid umgesetzt und dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) reagieren lässt.

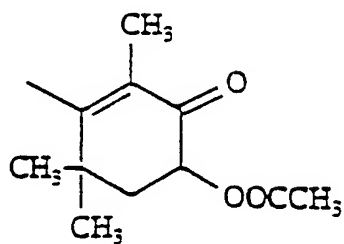
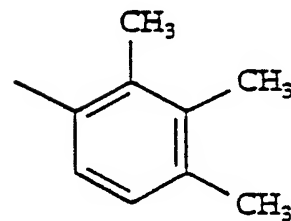
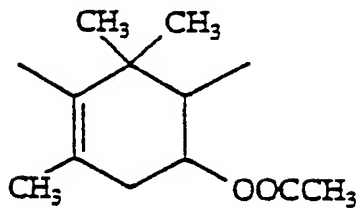
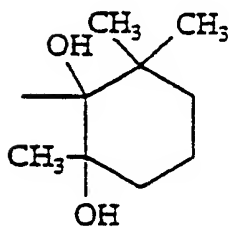
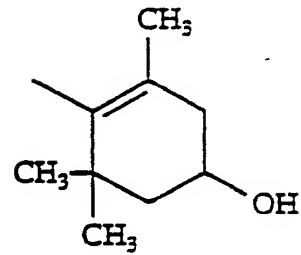
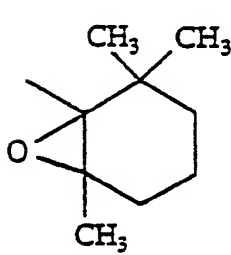
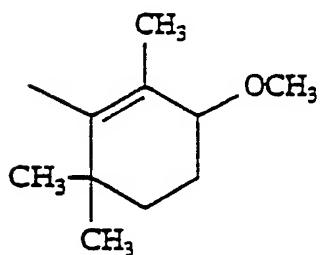
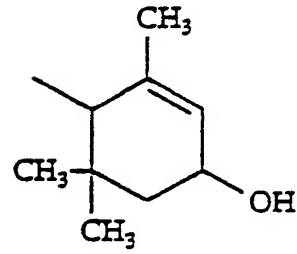
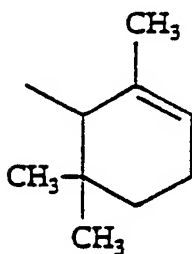
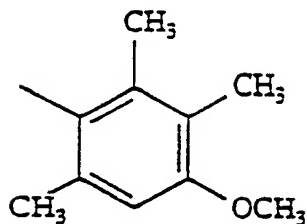
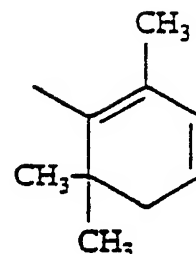
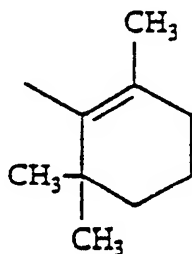
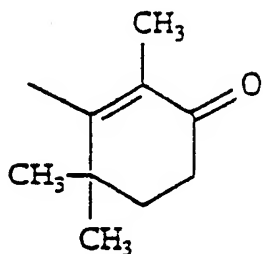
- 9) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XII) gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) in einem inerten Lösungsmittel unter Zusatz von Phosphortrichlorid und Imidazol reagieren lässt und das dabei entstandene, gereinigte und getrocknete Hydrogenphosphonat unter Zusatz von Pivaloylchlorid bei einer Temperatur von 20°C mit einer Verbindung der Formeln (XL), (XLI) oder (XLII) umsetzt:



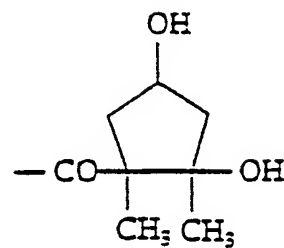
R 6 - OH

(XLII)

worin n die Zahlen 1,2,3 oder 4 meint und R<sub>5</sub> für die Radikale der folgenden Formeln:



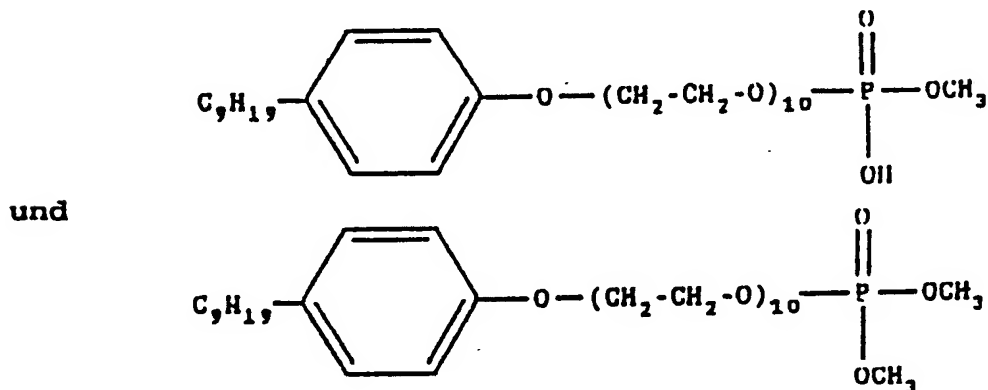
oder



steht und R<sub>6</sub> eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>4</sub> bis C<sub>32</sub>-Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe darstellt.

- 10) Ein spontan dispergierbares Konzentrat, dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente 0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie 0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches 0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches 0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins, 0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.
- 11) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente 0,001 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie 0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches 0 bis 85 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches 0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins, 0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

- 12) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass das pharmaverträgliche Tensid oder Tensidgemisch anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen, vorzugsweise nicht-ionogen, ist und ein hydrophiles-lipophiles Verhältnis zwischen 2 - 6 einerseits und 10 bis 15 andererseits hat und dass das Hydrotrop, bzw. der Co-Emulgator ein aliphatischer Carbonsäureester oder Neutralöl ist.
- 13) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 12 dadurch gekennzeichnet, dass es 7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, sowie 0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl 22,5 bis 42,5 Gewichts-% eines Mischemulgators bestehend aus je 50 % der beiden Verbindungen mit Formel



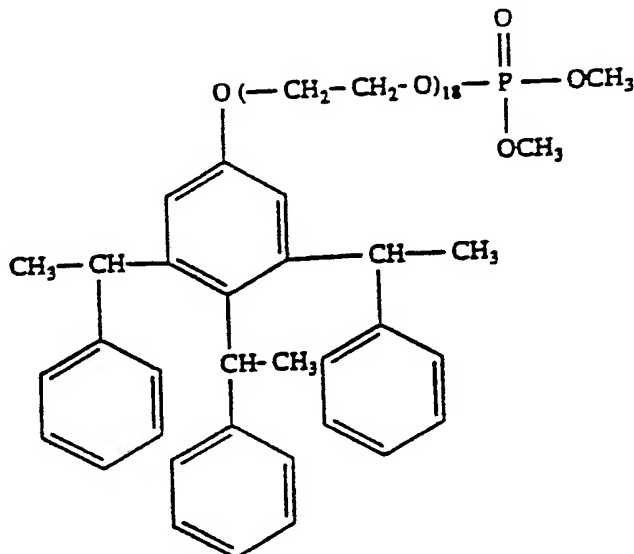
und 22,5 bis 42,5 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.

- 14) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es 7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss

Anspruch 1, sowie

0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl

22,5 bis 42,5 Gewichts-% eines Emulgators der Formel



und 22,5 bis 42,5 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.

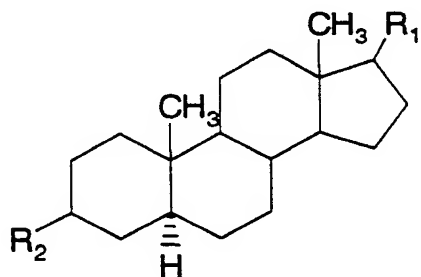
- 15) Ein therapeutisches Systempräparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 11 enthält und welches in Dosis-Einheitsform als Micropellets, Granulat, Dragées, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.
- 16) Die Verwendung von Sterolestern, bzw. Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1, sowie der spontan dispergierbaren Konzentrate gemäss Anspruch 11 zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen.

**GEÄNDERTE ANSPRÜCHE**

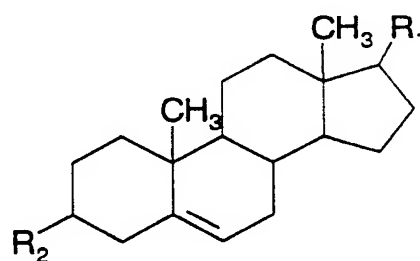
[beim Internationalen Büro am 02. März 1992 (02.03.92) eingegangen;  
 ursprüngliche Ansprüche 9,10-13,14-17,1,2,4,5,7 und 8 durch  
 geänderte Ansprüche 1,3-6,8-11,12,13,14,15,17 und 18  
 ersetzt; neue Ansprüche 2,7,12,13 und 16  
 hinzugefügt (22 Seiten)]

**1) Ein spontan dispergierbares Konzentrat, welches als Antitumorkomponente**

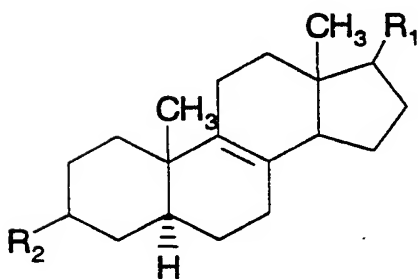
**0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. Sterolphosphatides der Formeln (I) bis (XV), bzw. einer Kombination solcher Komponenten**



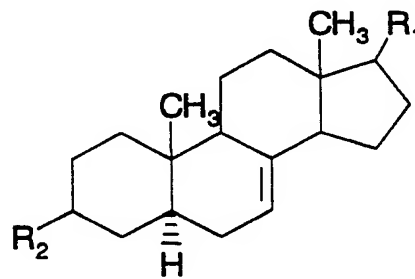
(I)



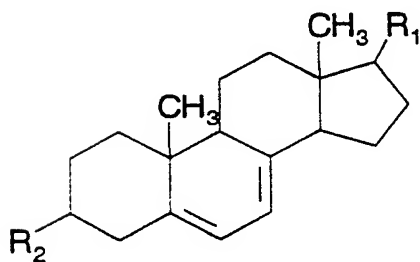
(II)



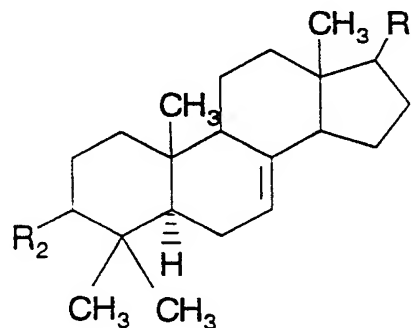
(III)



(IV)

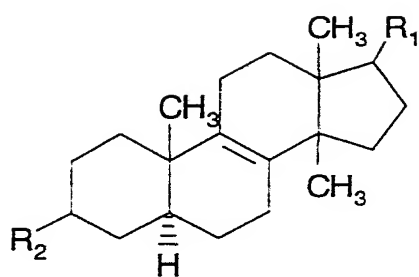


(V)

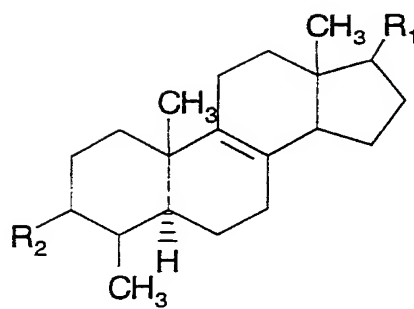


(VI)

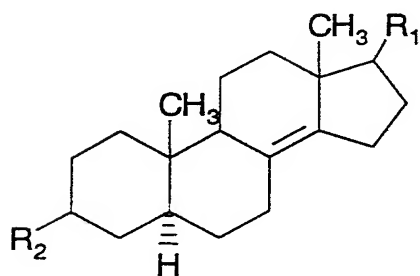
60



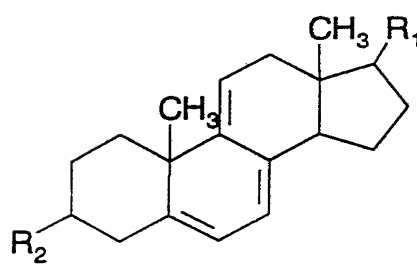
(VII)



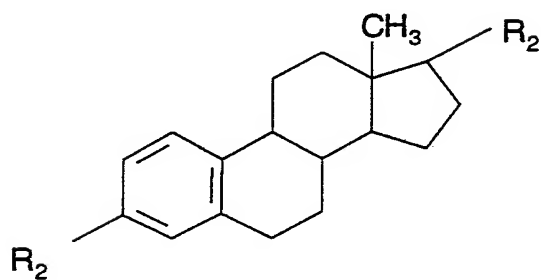
(VIII)



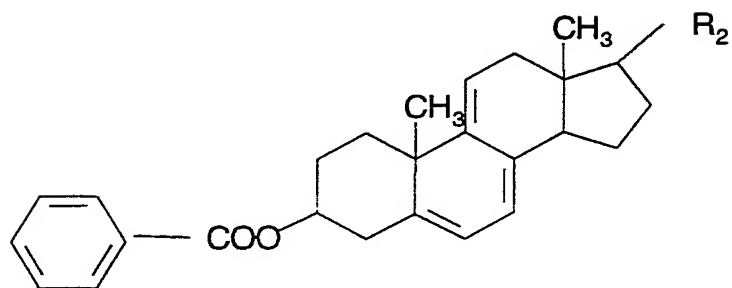
(IX)



(X)

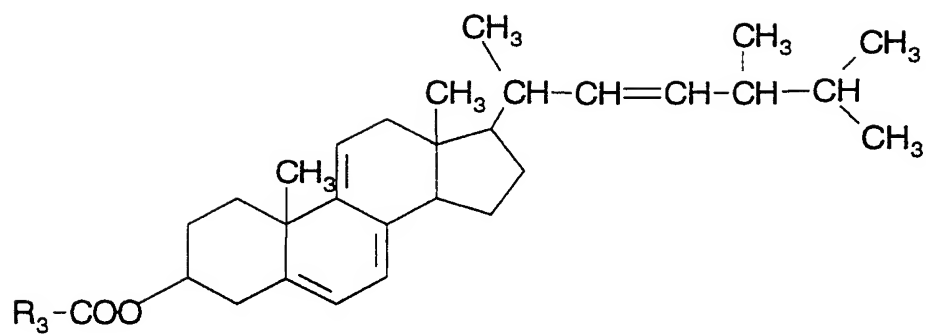


(XI)

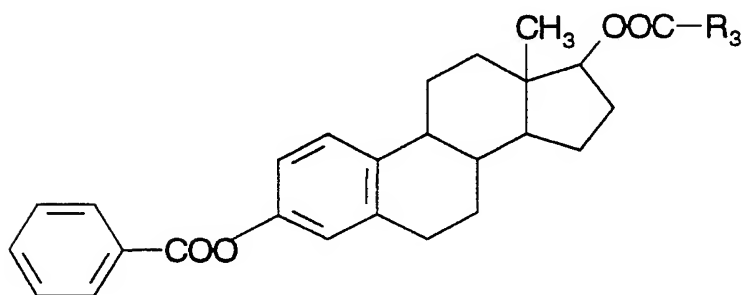


(XII)

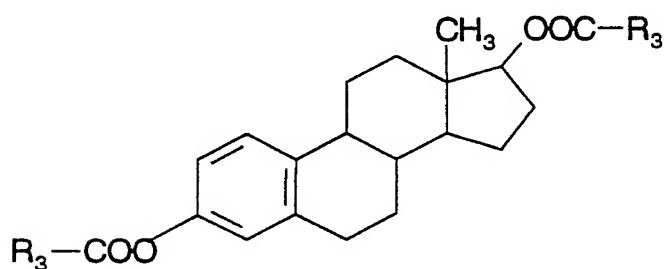
61



(XIII)

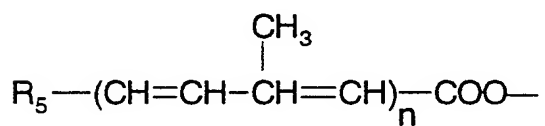


(XIV)



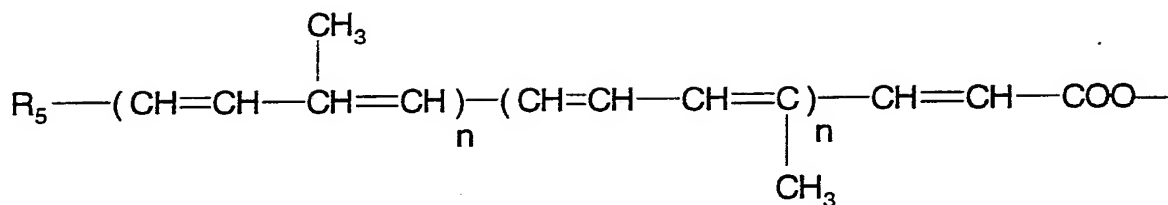
(XV)

wobei in den Formeln (I) bis (X) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$ -bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ -bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe und das Radikal  $R_2$  in den Formeln (I) bis (XII) eine Gruppe der Formeln (XVI) oder (XVII) ist



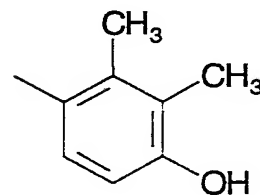
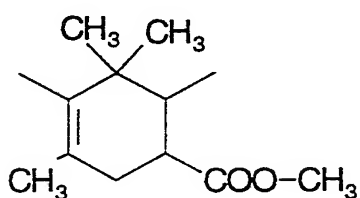
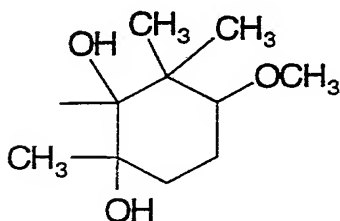
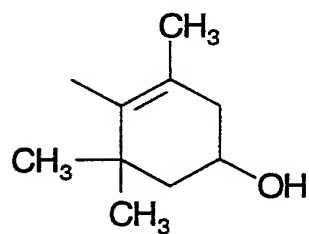
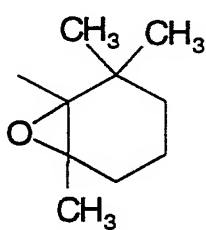
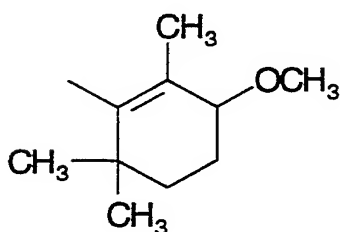
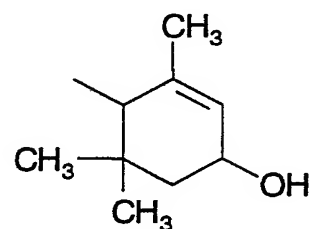
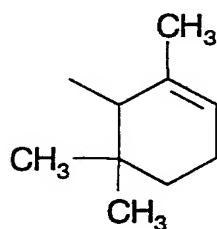
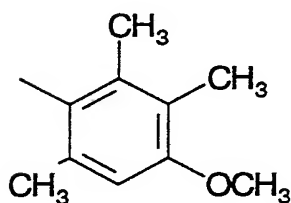
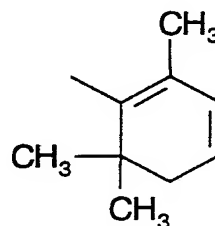
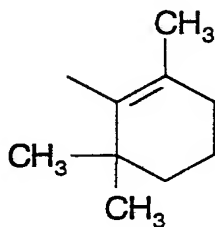
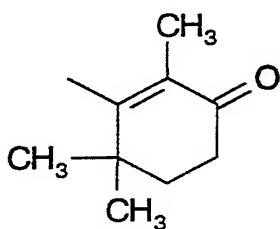
(XVI)

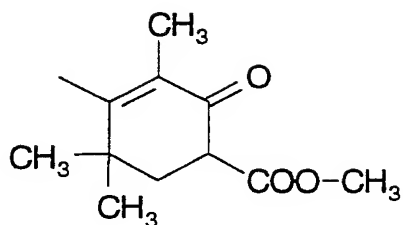
62



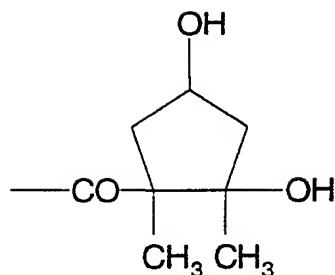
(XVII)

worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und  $R_5$  für ein Radikal der Formeln:

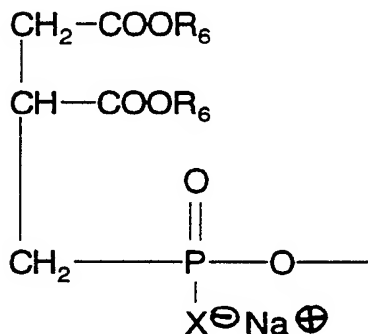




oder



steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) darstellt



(XVIII)

in welcher  $R_6$  eine  $C_1$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel oder Selen bedeuten, und wobei  $R_3$  in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkylgruppe oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ - Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe (d.h. die entsprechenden

Alkadiene, Alkatriene, Alkatetraene, Alkapentaene, Alkahexaene oder Alkaheptaene) steht, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

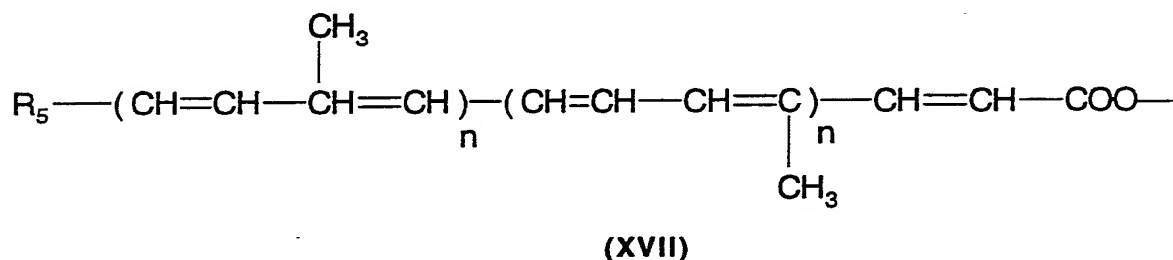
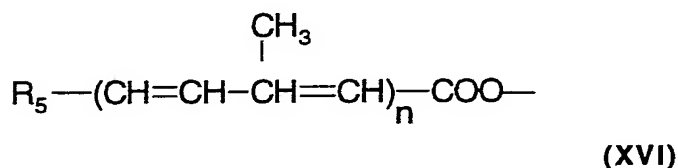
0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

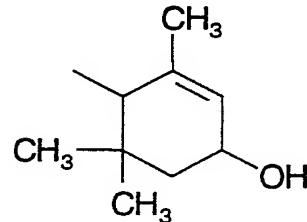
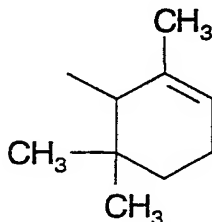
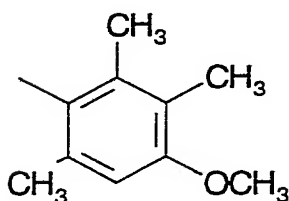
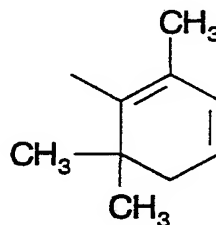
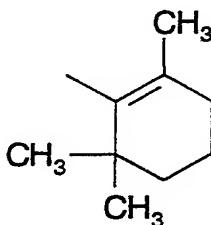
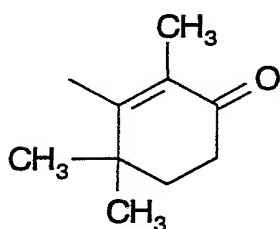
2) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 1), dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente

## 64

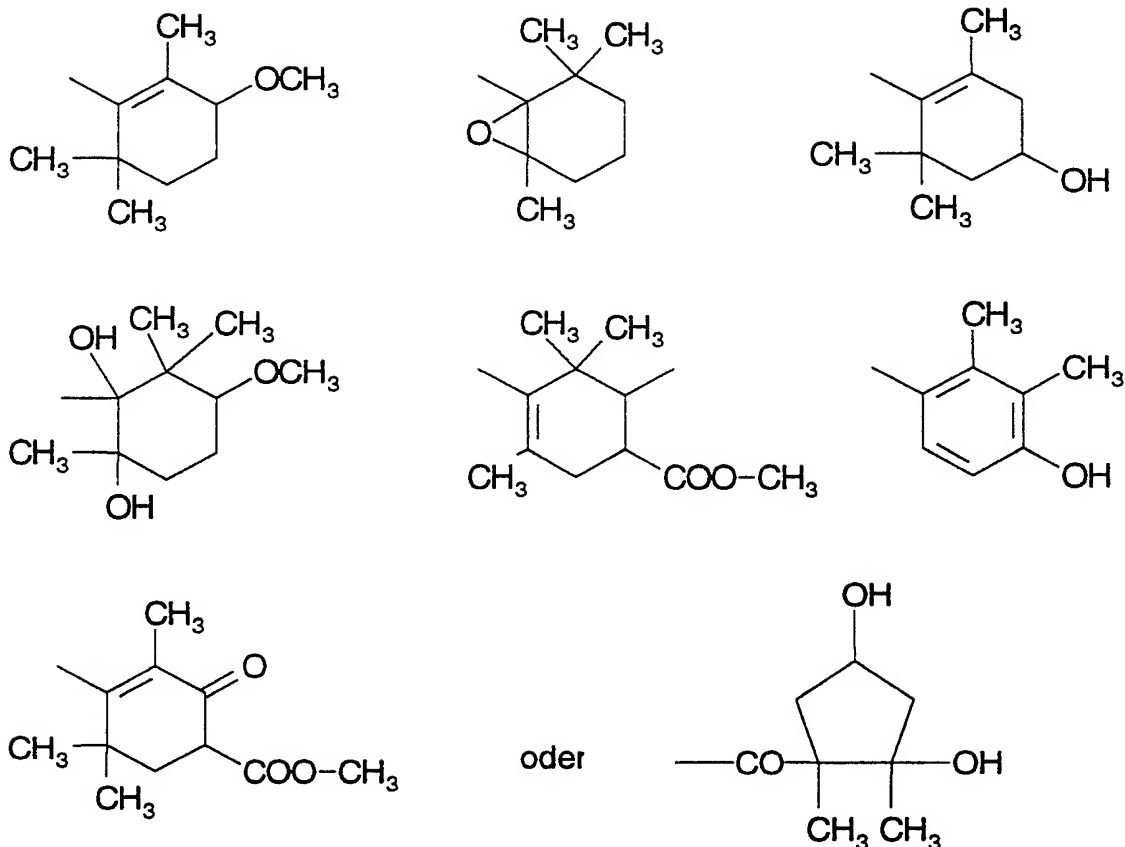
0,001 bis 25 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (XA) und (XI) bis (XIII), bzw. einer Kombination solcher Komponenten enthält, wobei  $R_1$  in den Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (XA) und (XI) bis (XIII) eine  $C_1$ - bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{10}$ -Alkenyl-Gruppe bezeichnet und  $R_2$  in den Formeln (I) bis (XII) für eine Gruppe der Formeln (XVI), bzw. (XVII) steht



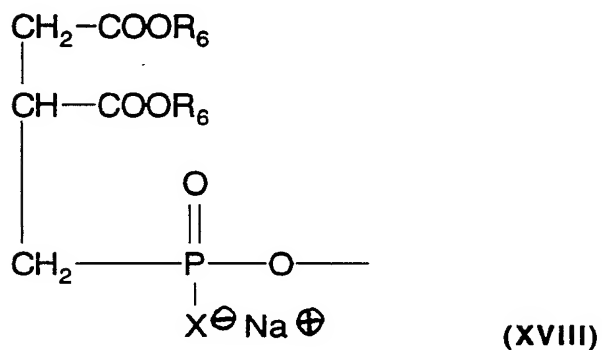
worin  $n$  die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und  $R_5$  für ein Radikal der Formeln:



65

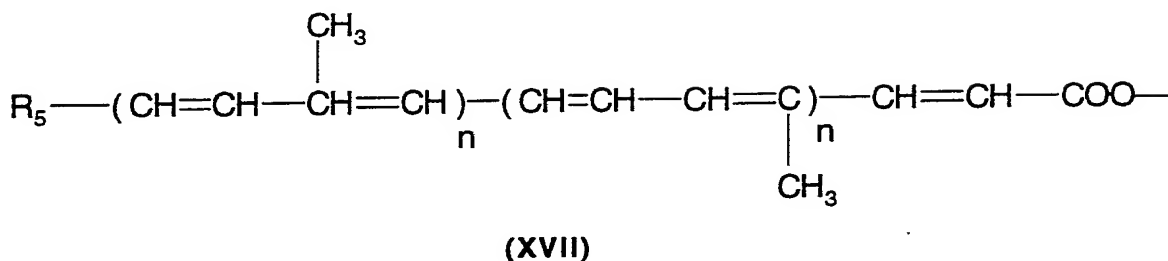
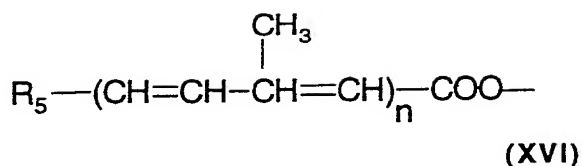


steht oder aber die Gruppe gemäss der Formel (XVIII) darstellt



in welcher  $R_6$  eine  $C_1$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw.

Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel oder Selen bedeuten, und wobei  $R_3$  in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkylgruppe oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ - Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe eingesetzt ist und in den Formeln (IIA), (VA) und (XA)  $R_4$  eine Gruppe der Formeln (XVI) bzw. (XVII) darstellt



mit der Massgabe, dass für die Formel nicht Cholest-5-en-3-all trans-Retinat stehen kann, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

3) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss dem Anspruch 1), dadurch gekennzeichnet, dass es als antitumorale Komponente

0,001 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters, bzw. einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), bzw. einer Kombination solcher Komponenten, sowie

0 bis 40 Gewichts-% eines als Hydrotrop, bzw. Co-Emulgator dienenden, pharmaverträglichen Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemisches

0,001 bis 90 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Tensides oder Tensidgemisches

0 bis 10 Gewichts-% eines Vitamins oder Provitamins,

0 bis 10 Gewichts-% einer freien Fettsäure und gegebenenfalls übliche Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel enthält.

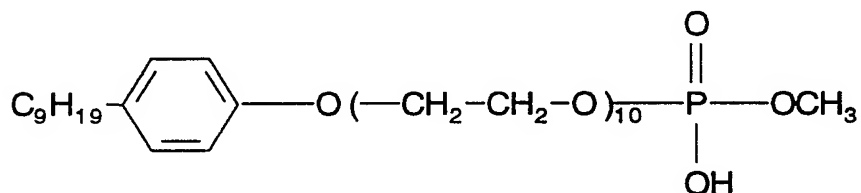
4) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 3), dadurch gekennzeichnet, dass das pharmaverträgliche Tensid oder Tensidgemisch anionaktiv, kationaktiv, amphoter oder nicht-ionogen, vorzugsweise nicht-ionogen, ist und ein hydrophiles-lipophiles Verhältnis zwischen 2 - 6 einerseits und 10 bis 15 andererseits hat und dass das Hydrotrop, bzw. der Co-Emulgator ein aliphatischer Carbonsäureester oder ein Neutralöl ist.

5) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 4) dadurch gekennzeichnet, dass es

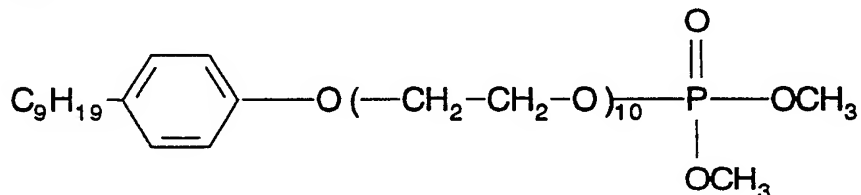
7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder einer Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), sowie

0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl

20 bis 45 Gewichts-% eines Emulgators der Formel



und



und 20 bis 45 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylenäthers mit 9 bis 10 Oxyäthylengruppen enthält.

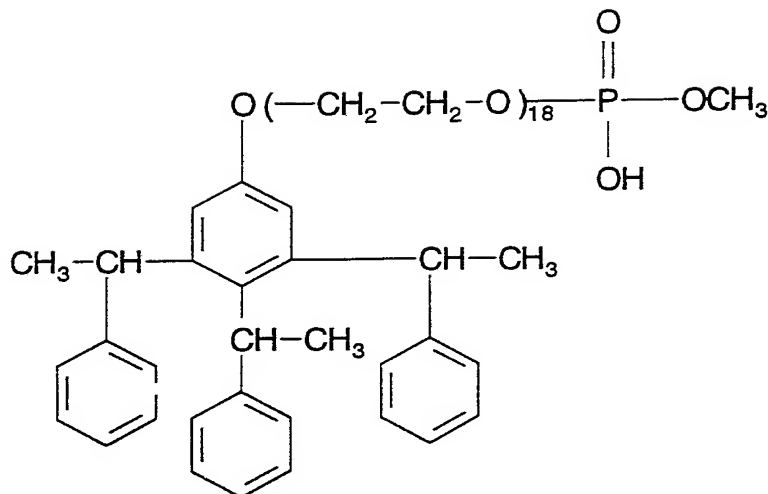
6) Ein spontan dispergierbares Konzentrat gemäss Anspruch 4) dadurch gekennzeichnet, dass es

7,5 bis 15 Gewichts-% eines Sterolesters oder eines Sterolphosphorverbindung der Formeln (I) bis (XV) gemäss Anspruch 1), sowie

0 bis 40 Gewichts-% Isopropylmyristat oder Isopropylpalmitat oder Neutralöl

20 bis 45 Gewichts-% eines Emulgators der Formel

68



**und 20 bis 45 Gewichts-% des tert. Octylphenylpolyoxyäthylensäthers mit 9 - 10 Oxyäthylengruppen enthält.**

**7) Ein pharmazeutisches Präparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates laut Anspruch 1) enthält und überdies bis zu 10 Gewichts-% eines pharmaverträglichen Zusatzstoffes, Lösemittels oder Stabilisators, oder eines Gemisches davon.**

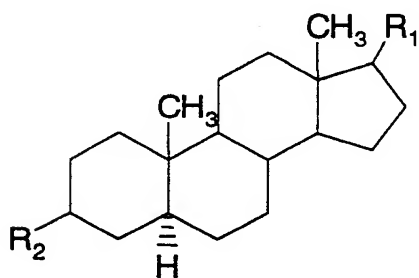
**8) Ein therapeutisches Systempräparat, welches 1 bis 95 Gewichts-% des spontan dispergierbaren Konzentrates gemäss Anspruch 1) enthält, und welches in Dosis-Einheitsform als Micropellets, Granulat, Dragées, Suppositorien, Ampullen oder als Kapseln vorliegt.**

9) Ein therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 8), welches 44 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung, 25 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates und 31 Teile magensaftresistente und retardierende Beschichtung mit Hydroxylpropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat enthält.

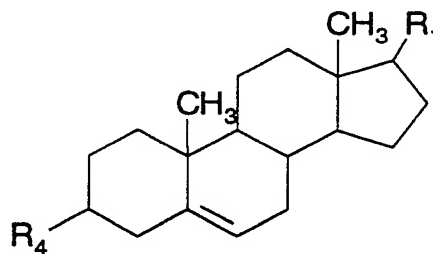
10) Ein therapeutisches Systempräparat gemäss Anspruch 8), welches 64 Teile Kernmaterial für die Granulat-, bzw. Pellet-Bildung und 36 Teile eines erfindungsgemässen Konzentrates enthält und in pharmazeutisch geeignete Kapseln aus Hydroxylpropyl-Methylcellulose-Acetat-Succinat abgefüllt wird.

11) Die Verwendung der spontan dispergierbaren Konzentrate und Präparate laut den Ansprüchen 1) bis 10) zur Bekämpfung des Wachstums von Tumorzellen.

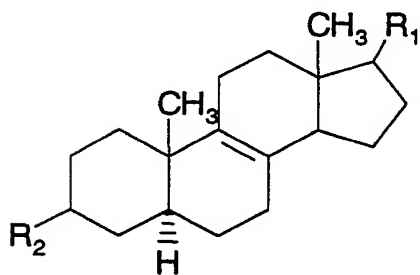
12) Sterolester und Sterolphosphatide der Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII)



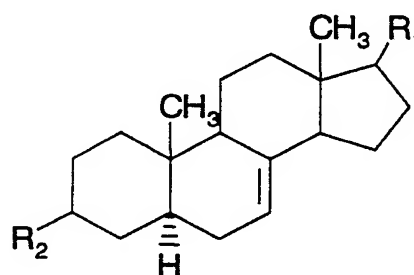
(I)



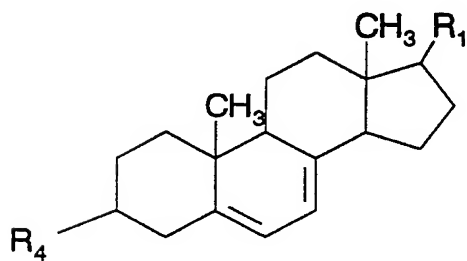
(IIA)



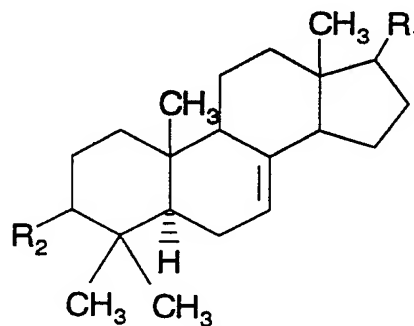
(III)



(IV)

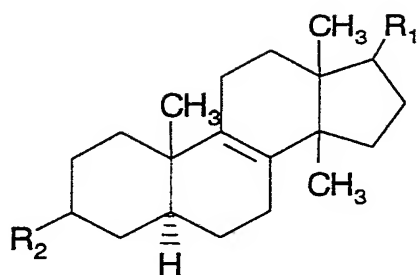


(VA)

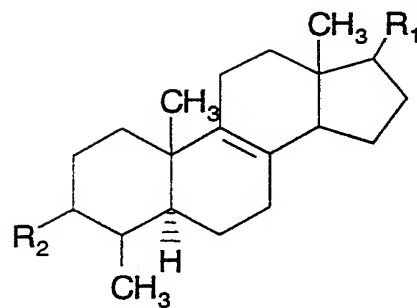


(VI)

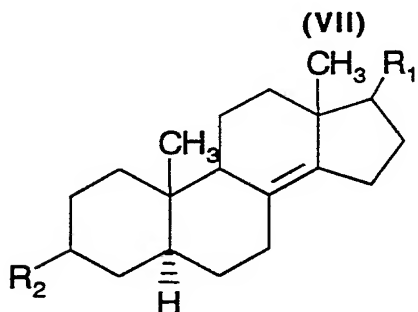
70



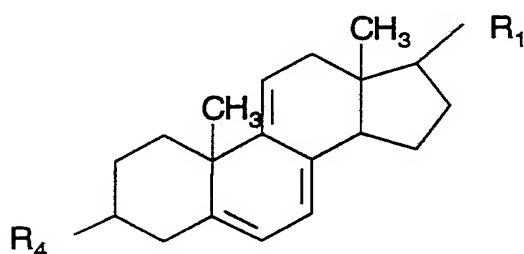
(VII)



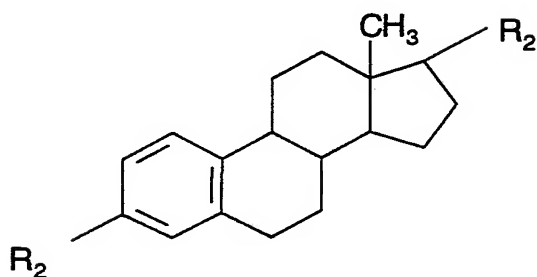
(VIII)



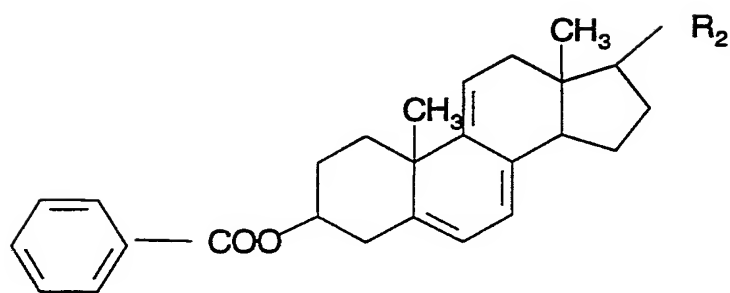
(IX)



(XA)

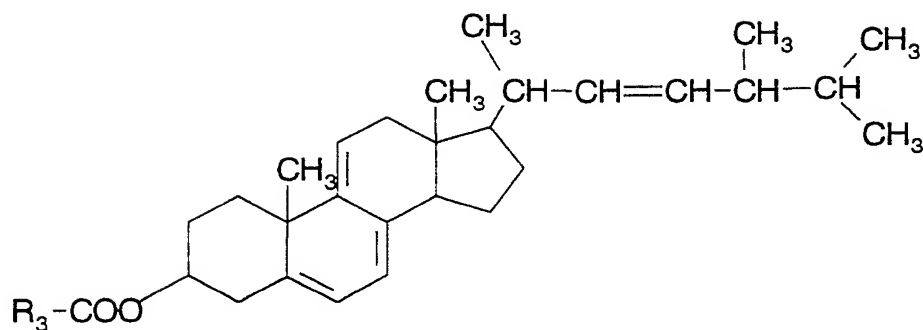


(XI)



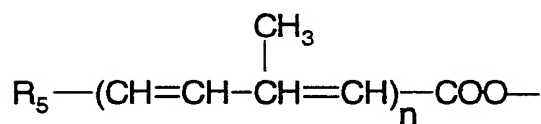
(XII)

71

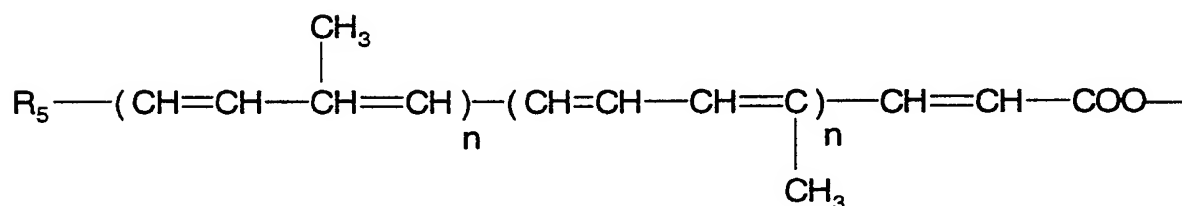


(XIII)

wobei in den Formeln (I) bis (XA) R<sub>1</sub> eine C<sub>1</sub>- bis C<sub>10</sub>-Alkyl oder eine C<sub>2</sub>-bis C<sub>10</sub>-Alkenyl-Gruppe bezeichnet, und in den Formeln (I) bis (XII) R<sub>2</sub> für eine Gruppe der Formeln (XVI) bzw. (XVII) steht :

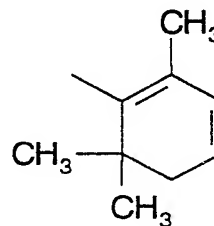
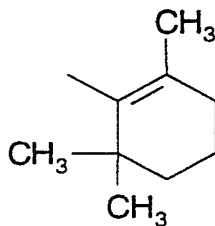
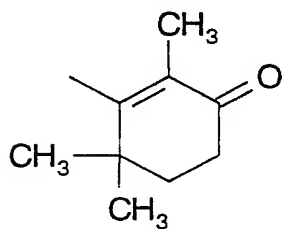


(XVI)

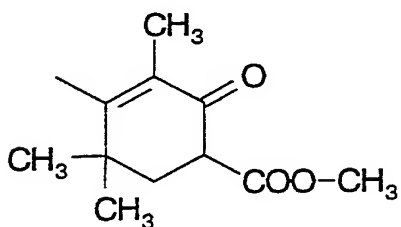
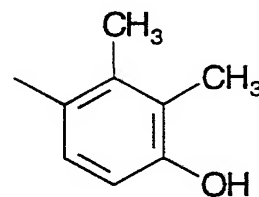
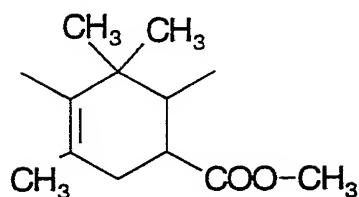
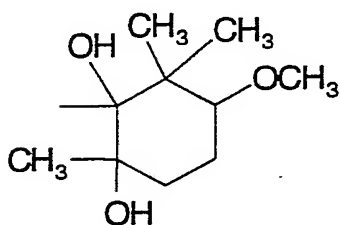
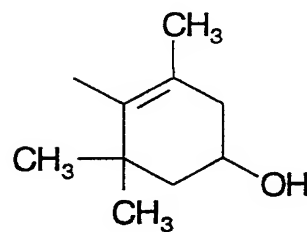
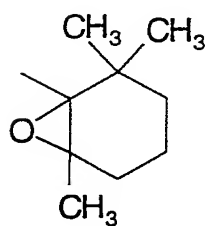
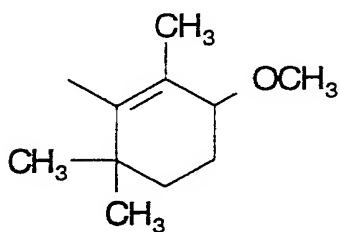
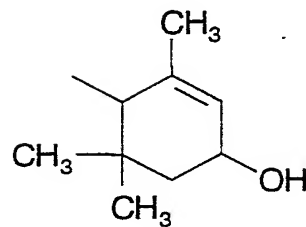
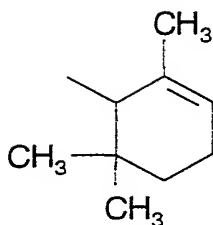
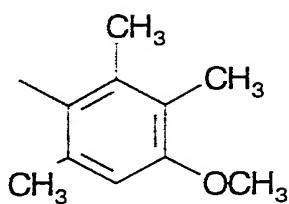


(XVII)

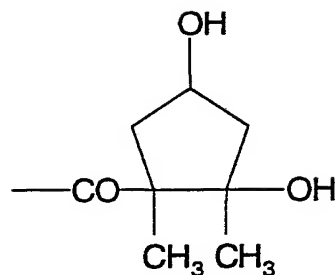
worin n die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bezeichnet und R<sub>5</sub> für ein Radikal der Formeln:



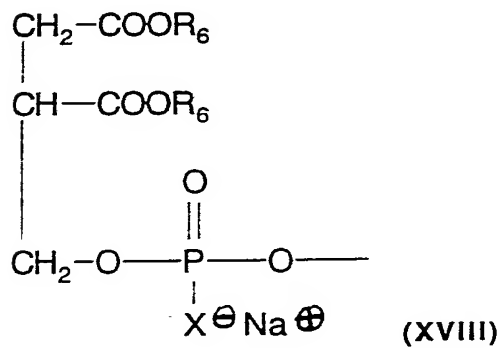
72



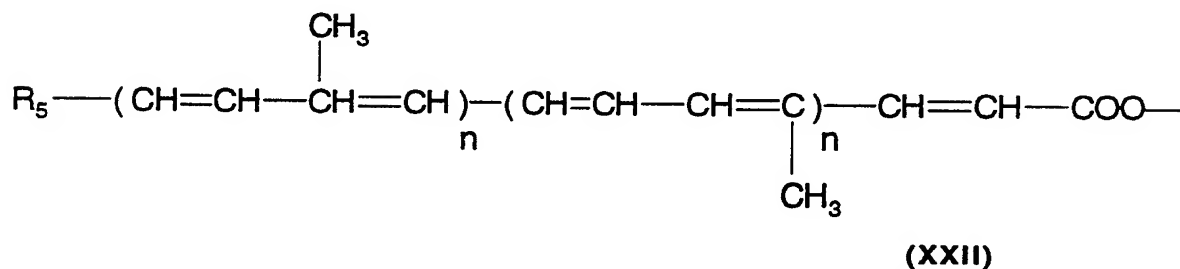
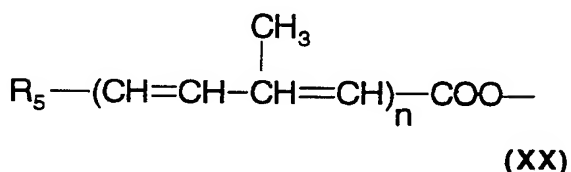
oder



steht oder die Gruppe mit Formel (XVIII) darstellt :

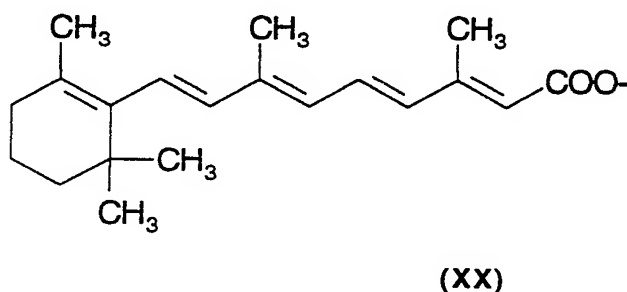


in welcher  $R_6$  eine  $C_1$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff, Schwefel oder Selen bedeuten, und wobei  $R_3$  in den Formeln (XIII) bis (XV) für eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkylgruppe oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht und  $R_4$  in den Formeln (IIA), (VA) und (XA) eine Gruppe gemäss Formeln (XX), bzw. (XXII) bestimmt:

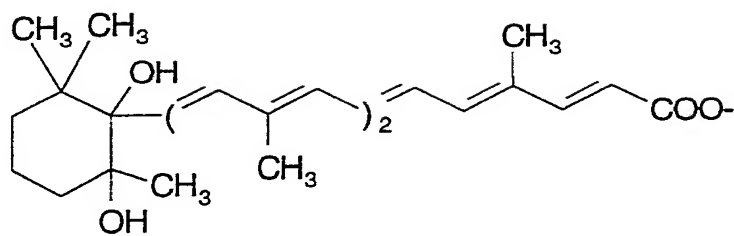


mit der Massgabe, dass für die Formel (IIA) nicht Cholest-5-en-3-ol trans-Retinat stehen kann.

13) Ein Verbindung laut Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass in den Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX) und (XA) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$ - bis  $C_{10}$ -Alkyl-, bzw. eine  $C_2$ - bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe bestimmt und das Radikal  $R_2$  in den Formeln (I), (III), (IV), (VI) bis (IX), (XI) und (XII) eine Verbindung der Formeln (XX), bzw (XXII) vertritt

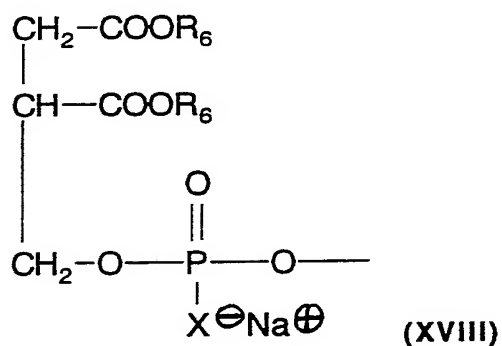


74



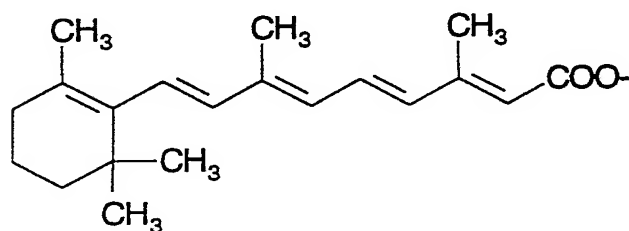
(XXII)

oder eine Gruppe gemäss Formel (XVIII) bezeichnet:

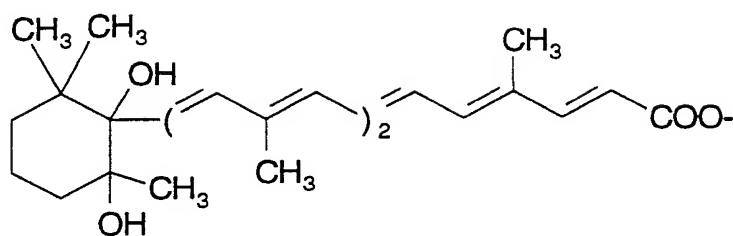


(XVIII)

in welcher  $R_6$  eine  $C_1$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe und X Sauerstoff oder Schwefel bedeuten, und wobei  $R_3$  in der Formel (XIII) für eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkylgruppe oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl- bzw. Alkapolyengruppe steht und  $R_4$  in den Formeln (IIA), (VA) und (XA) eine Gruppe gemäss den Formeln (XX) oder (XXII) ist



(XX)



(XXII)

mit der Massgabe, dass für die Formel (IIA) nicht Colest-5-en-3-all-trans-Retinat stehen kann.

#### 14) Die Verbindungen

Stigmasterol-all-trans-retinat

Stigmasterol-13-cis-retinat

Ergosterol-all-trans-retinat

Ergosterol-13-cis-retinat

Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-phosphatid

Stigmasterol-1,2-dipalmitoyl-glycero-thiophosphatid

Ergosterol-1,2,-dipalmitoyl-glycero-phosphatid

Ergosterolcrotonat

Ergosterolcaproylat

Ergosterol-10-undecenoat

Ergosterollaurat

Ergosterol-trans-2-dodecenoat

Ergosterolpalmitat

Ergosterololeat

Ergosterollinoleat

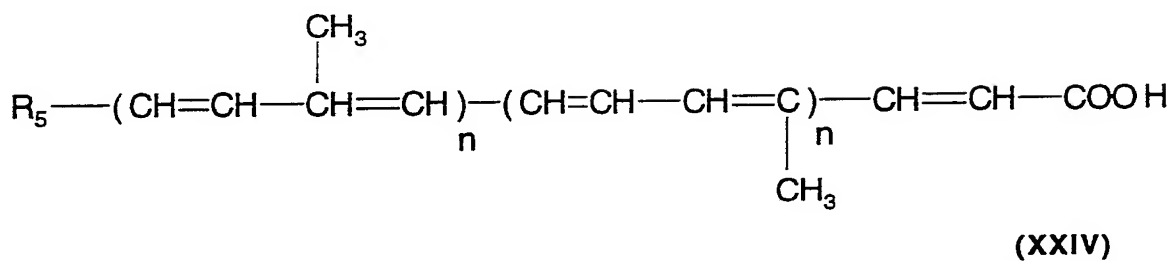
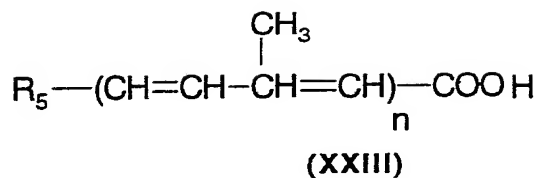
Ergosterollinolenat

Estradiol-3,17-di-all trans-retinat

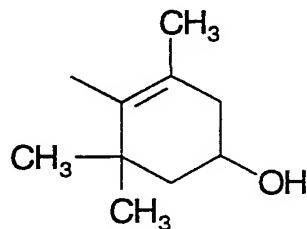
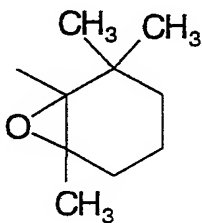
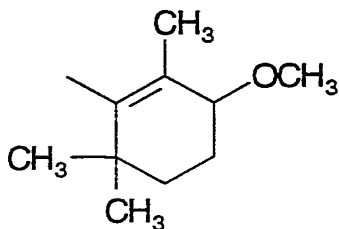
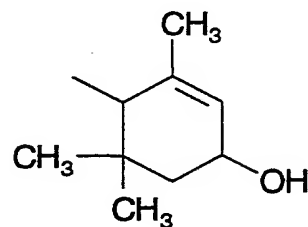
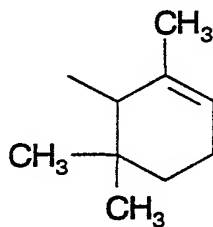
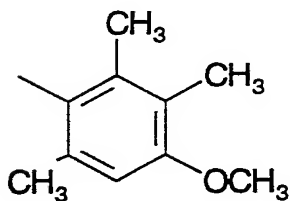
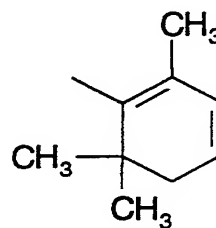
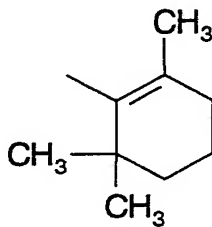
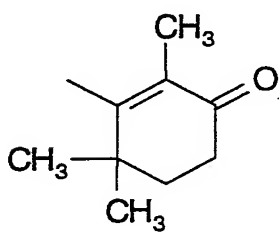
Estradiol-3-benzoate-17-all trans-retinat

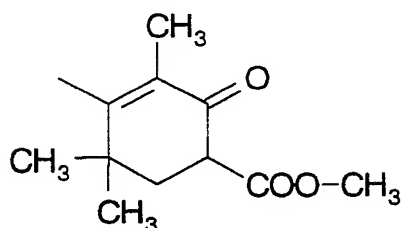
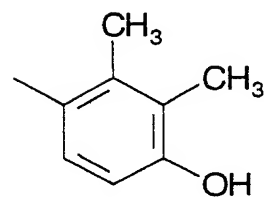
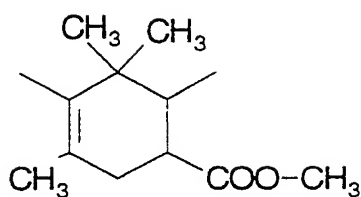
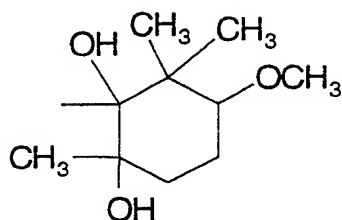
laut Anspruch 13).

15) Ein Verfahren zur Herstellung der Sterolester gemäss den Formeln (I) (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII) laut Anspruch 12), darin bestehend, dass man eine Verbindung der Formeln (XXIII), bzw. (XXIV)

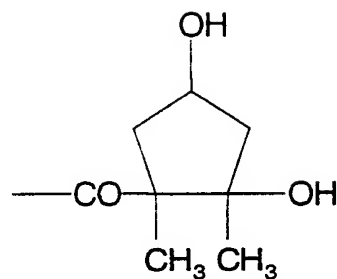


worin  $n$  die Zahlen 1, 2, 3, 4 oder 5 bedeutet und  $R_5$  für ein Radikal der folgenden Formeln

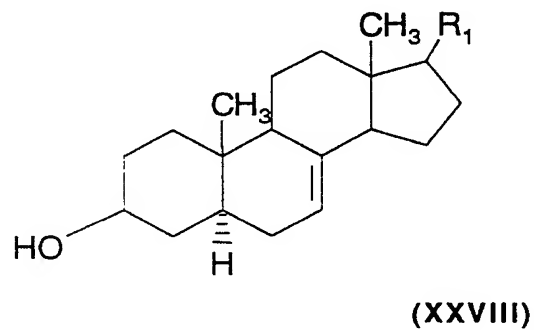
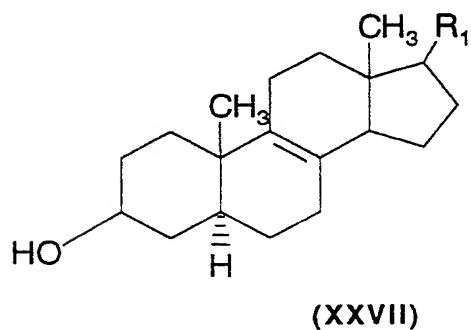
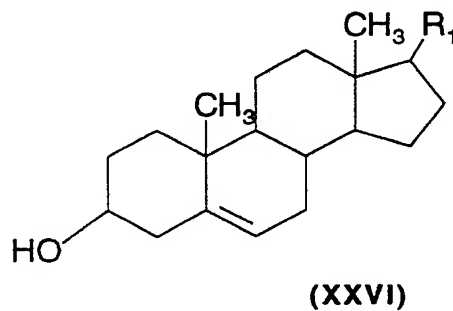
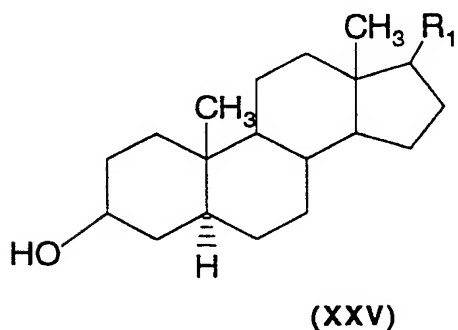




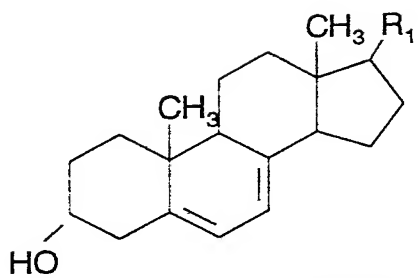
oder



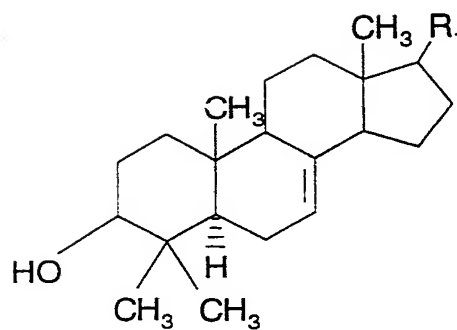
steht, mit N,N'-Carbonyldiimidazol bei 25 bis 70°C unter Zusatz einer katalytischen Menge eines Alkoholates in einem indifferenten Lösungsmittel umgesetzt und anschliessend das entstandene Imidazolat mit einem Sterol der folgenden Formeln (XXV) bis (XXXVII) reagieren lässt



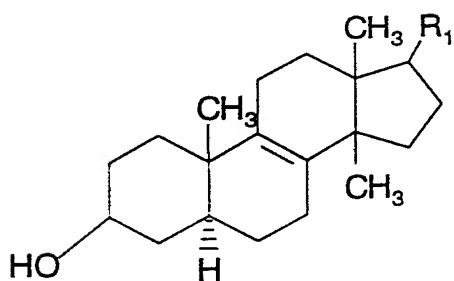
78



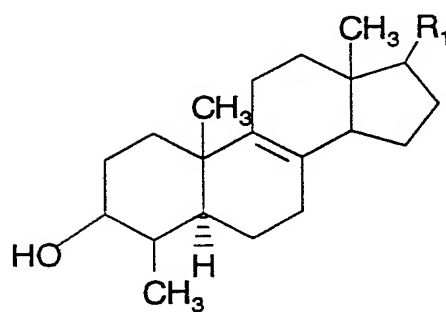
(XXIX)



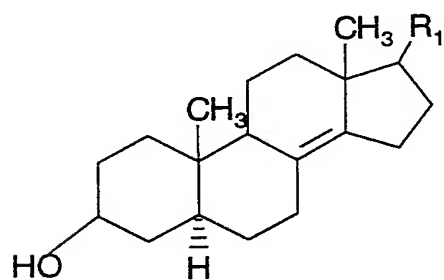
(XXX)



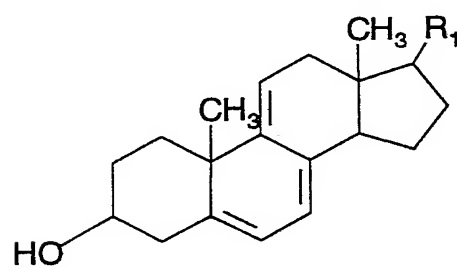
(XXXI)



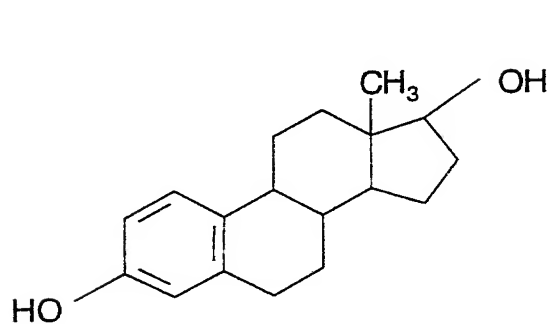
(XXXII)



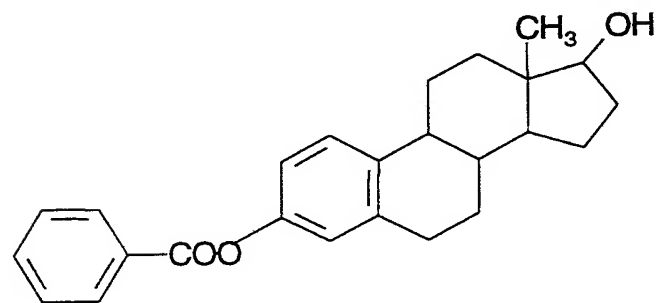
(XXXIII)



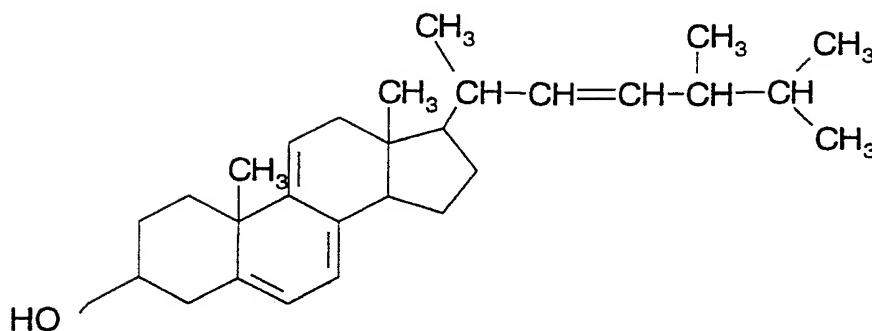
(XXXIV)



(XXXV)



(XXXVI)



(XXXVII)

wobei in den Formeln (XXV) bis (XXXIV) das Radikal  $R_1$  eine  $C_1$ - bis  $C_{10}$ -Alkyl- oder eine  $C_2$ - bis  $C_{10}$ -Alkenylgruppe ist.

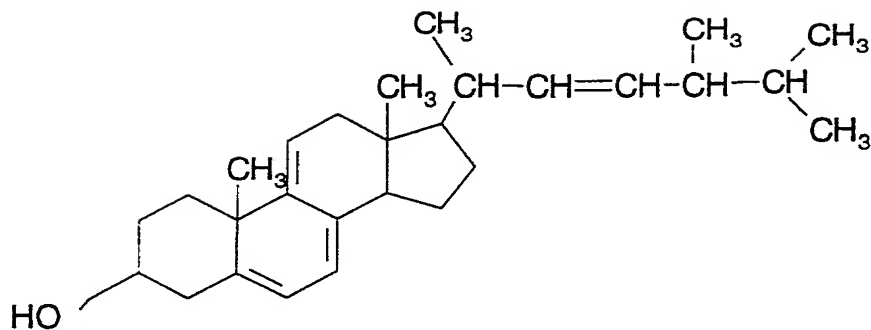
16) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formeln (I), (IIA), (III), (IV), (VA) bis (IX), (XA) und (XI) bis (XIII) gemäss Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXIII) mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXVII) bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem indifferenten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysatoren umsetzt.

17) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolestern der Formel (XIII), laut Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVI)



worin  $R_7$  eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkyl- oder eine  $C_4$ - bis  $C_{32}$ -Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, mit einem Chlorierungs-, bzw. Bromierungsmittel in das Säurechlorid, bzw. in das Säurebromid überführt und diese dann mit einem der Sterole der Formel (XXXVII)

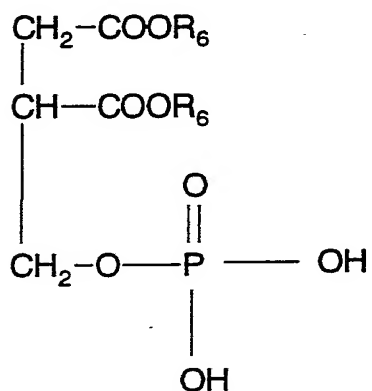
80



(XXXVII)

bei einer Temperatur von 40 bis 120°C in einem inerten Lösungsmittel und in Gegenwart eines Katalysators umgesetzt.

18) Ein Verfahren zur Herstellung von Sterolphosphorverbindungen der Formeln (I), (III), (IV), (VI) bis (IX) und (XI) bis (XIII) gemäß Anspruch 12), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel (XXXVIII)



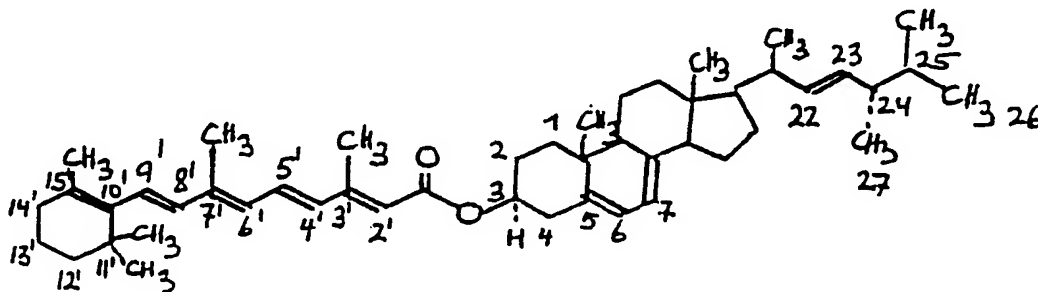
(XXXVIII)

worin R<sub>6</sub> eine C<sub>1</sub>- bis C<sub>32</sub>-Alkyl- oder eine C<sub>2</sub>- bis C<sub>32</sub>- Alkenyl-, bzw. Alkapolyengruppe bedeutet, in einem inerten Lösungsmittel mit Pivaloylchlorid umgesetzt und dann mit einem Sterol der Formeln (XXV) bis (XXXIV) und (XXXVII) reagieren lässt.

1/3

ERGOSTEROL-3 $\beta$ -all trans-RETINAT

## N M R SPECTRUM (BRUKER AM-360 SPECTROMETER)



Chemical shift in ppm vs. TMS*)	Multiplicity **)	Number of protons	Assignments
7.26	s	solvent	CHCl <sub>3</sub>
7.0	d , d	1	H-5'
6.27	m	2	H-4' + H-8'
6.15	d	1	H-9'
6.10	d	1	H-6'
5.75	s	1	H-2'
5.57	m	1	H-6
5.38	m	1	H-7
5.25 ... 5.13	m	2	H-22 + H-23
4.75	m	1	H-3 $\alpha$
2.35	s (m)	3	-CH <sub>3</sub> (C-3')
2.0	s (m)	3	-CH <sub>3</sub> (C-7')
1.70	s (m)	3	-CH <sub>3</sub> (C-15')
1.25 + 1.0	s + s	6	-C $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$ (C-11')
1.03 + 0.91	d + d	6	sec. CH <sub>3</sub> (C-20 + C-24)
0.96	s	3	-CH <sub>3</sub> -19
0.83 + 0.82	d + d	6	-CH $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$ 26 27
0.63	s	3	-CH <sub>3</sub> -18
2.5 ... 0.7	m	remaining protons	

\*) TMS = Tetramethylsilane

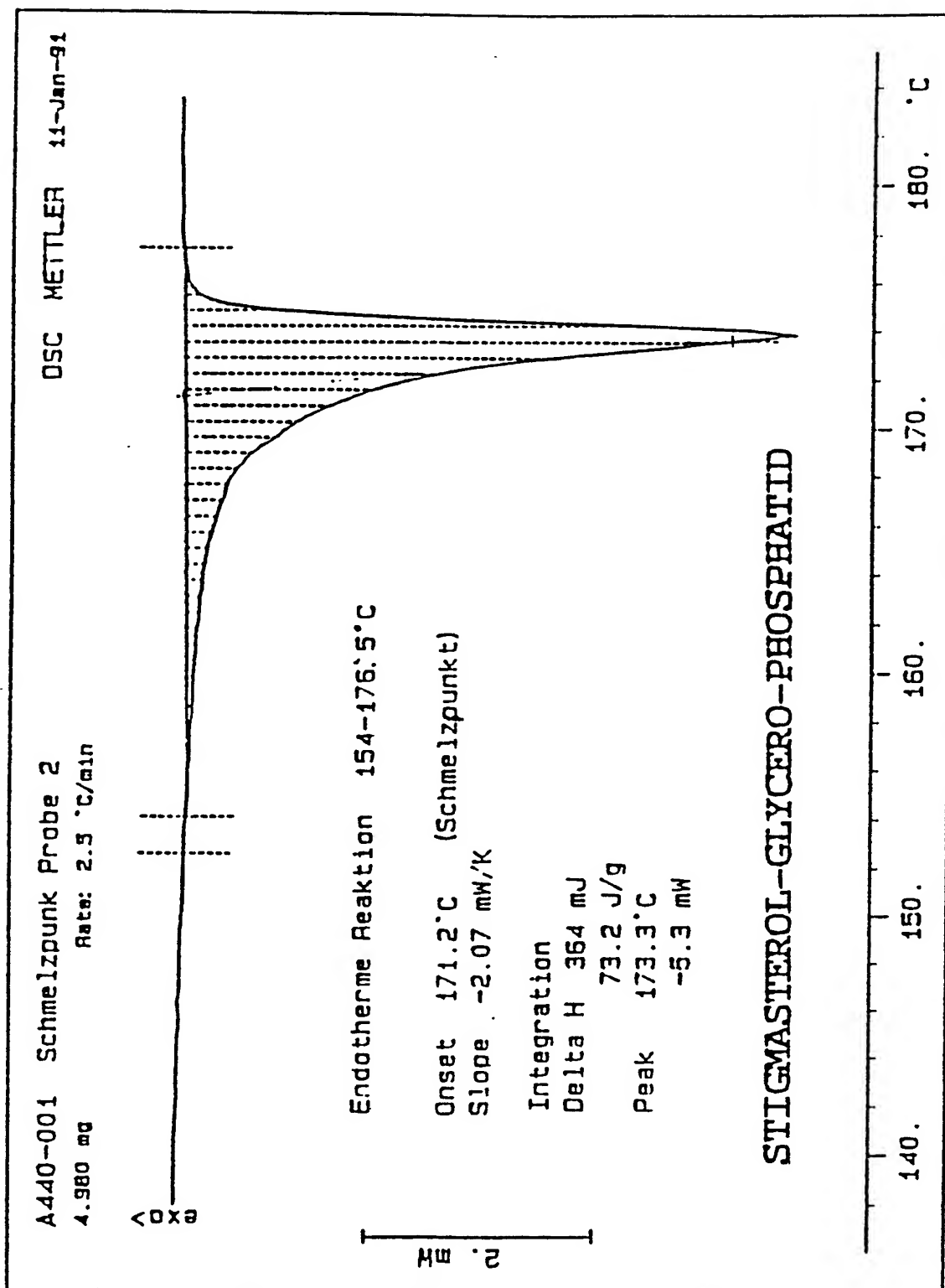
\*\*) s: singlet ; d: doublet ; m: multiplet

Fig. 1

2/3

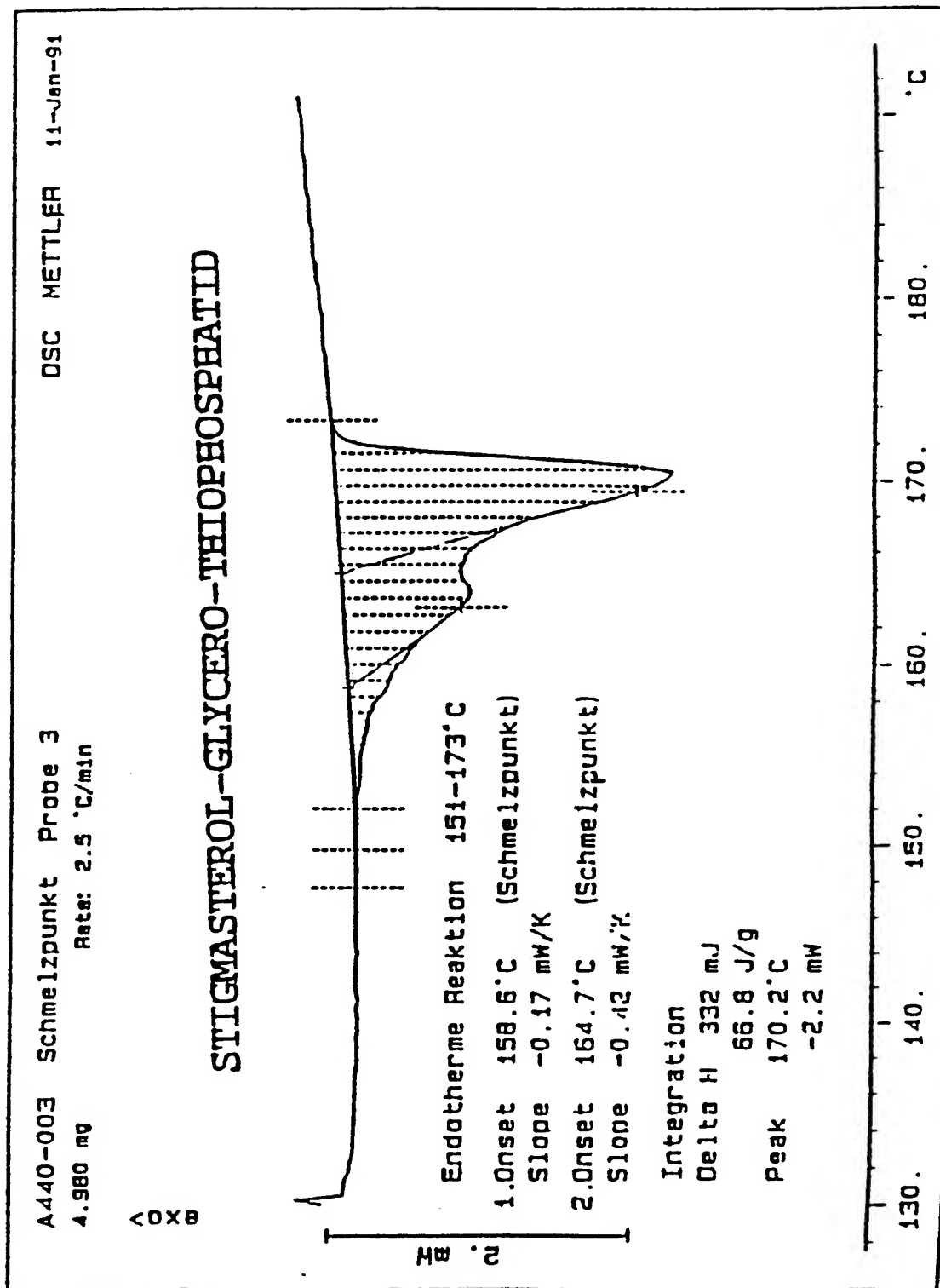
## SCHMELZBEREICH-MESSUNG

D S C = Density Scanning Calorimetry



3/3

Fig. 2  
Fortsetzung



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/CH 91/00221

<b>I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> (If several classification symbols apply, indicate all) <sup>6</sup>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl. <sup>5</sup>	C07J9/00;	C07J51/00;
		A61K31/56
<b>II. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum Documentation Searched <sup>7</sup>		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. <sup>5</sup>	C07J ; A61K	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched <sup>8</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <sup>9</sup></b>		
Category <sup>*</sup>	Citation of Document, <sup>11</sup> with indication, where appropriate, of the relevant passages <sup>12</sup>	Relevant to Claim No. <sup>13</sup>
X	US,A,4 190 594 (JOHNSON AND JOHNSON) 26 February 1980 see example 2	1-3,6
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS vol. 20, No. 2, 1977, UTRECHT NL pages 131 - 139; T. MURAMATSU ET AL: 'Synthesis of Phospholipids. III. Synthesis of 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glycerol-3- -Phosphoryl-3 <sub>9</sub> Beta-Cholesterol and 1,2-Dipalmito yl-rac-Glycerol-3-Phosphoryl-20 <sub>9</sub> -(3-Beta-Hydroxy Norpregn-5-ene)' see the whole document	1-3
./.		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p><sup>*</sup> Special categories of cited documents: <sup>10</sup></p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"Z" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
29 January 1992 (29.01.92)	5 February 1992 (05.02.92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
EUROPEAN PATENT OFFICE		

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		
Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS vol. 23, No. 1, 1979, UTRECHT NL pages 7 - 12; I. HARA ET AL: 'Immunochemical Properties of Phosphatidyl Cholesterol and its Homologue' see the whole document	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA vol. 775, No. 3, 5 September 1984, UTRECHT NL pages 426 - 434; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Lateral Interaction of Cholesterol in Diacylphosphatidylcholesterol Bilayers' see page 428	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA vol. 691, No. 2, 7 October 1982, UTRECHT NL pages 240 - 248; J. H. NOGGLE ET AL: 'Bilayers of Phosphatidylglycerol and Phosphatidylcholesterol Give 31P-NMR Spectra Characteristic for Hexagonal and Isotropic Phases' see page 247, column 1 - page 247, column 2	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA vol. 600, No. 3, 14 August 1980, UTRECHT NL pages 678 - 688; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Phosphatidylcholesterol Bilayers A Model for Phospholipid-Cholesterol Interaction' see page 679 - 680	1-3
X	PHOSPHORUS AND SULFUR vol. 17, No. 1, 1983, pages 67 - 71; F. RAMIREZ ET AL: 'Covalent Models for Phospholipid-Sterol Interactions. Synthesis of P phosphatidyl-delta-5,7,9-Cholestatrien-3-beta-ol' see the whole document	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 97, No. 13, 27 September 1982, Columbus, Ohio, US; abstract No.110220, A. K. SINGH: 'A Convenient and Improved Method for The Preparation of Retinoates' page 634 ; column 2 ; see abstract & SYNTH. COMMUN. vol. 12, No. 6, 1982, pages 447 - 451;	1-3

./.

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		
Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	SYNTHESIS. No. 10, October 1977, STUTTGART DE pages 673 - 675; F. RAMIREZ ET AL: 'Synthesis of Phospholiposteroids. Phosphotidylcholesterol' see the whole article	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 100, No. 13, 26 March 1984, Columbus, Ohio, US; abstract No. 99762, M. M. GOMEZ ET AL: 'Effect of Sex Hormones on Junin Virus Replication' page 347 ; column 1 ; see abstract & COMUN. BIOL. vol. 2, No. 2, 1983, pages 161 - 166;	1,3,4
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 104, No. 9, 3 March 1986, Columbus, Ohio, US; abstract No. 62329, M. A. VAZQUEZ-ALCATARA ET AL: 'Synthesis and Biological Assessment of Long-Acting Estradiol Fatty Acid Esters in Ovariectomized Rats' page 94 ;column 1 ; see abstract & J. STEROID BIOCHEM. vol. 23, No. 5A, 1985, pages 599 602;	1
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 112, No. 17, 23 April 1990, Columbus, Ohio, US; abstract No. 151977, M. A. VAZQUEZ-ALCATARA ET AL: 'Long Acting Estrogenic Responses of Estradiol Fatty Acid Esters' page 93 ;column 1 ; see abstract & J. STEROID BIOCHEM. vol. 33, No. 6, 1989, pages 1111 - 1118;	1
A	EP,A,0 375 349 (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 27 June 1990 see the whole document	1,10
P,X	WO,A,9 105 754 (MEDAFOR) 2 May 1991 see claims 1-13; example 5	1,10

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. CH 9100221  
SA 52323**

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 29/01/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
US-A-4190594	26-02-80	US-A-	4108880	22-08-78
		BE-A-	847942	03-05-77
		CA-A-	1062700	18-09-79
		GB-A-	1543824	11-04-79
		NL-A-	7612201	05-05-77
-----				
EP-A-0375349	27-06-90	US-A-	5026882	25-06-91
		AU-A-	4703989	28-06-90
		CA-A-	2005214	23-06-90
		JP-A-	2215796	28-08-90
-----				
WO-A-9105754	02-05-91	FR-A-	2653117	19-04-91
		FR-A-	2658185	16-08-91
		EP-A-	0448697	02-10-91
-----				

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH 91/00221

**I. KLASSEIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS** (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)<sup>6</sup>

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC  
 Int.Kl. 5 C07J9/00; C07J51/00; A61K31/56

**II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE**Recherchierter Mindestprüfstoff <sup>7</sup>

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole
Int.Kl. 5	C07J ; A61K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen <sup>8</sup>

**III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN** <sup>9</sup>

Art. <sup>9</sup>	Kennzeichnung der Veröffentlichung <sup>11</sup> , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile <sup>12</sup>	Betr. Anspruch Nr. <sup>13</sup>
X	US,A,4 190 594 (JOHNSON AND JOHNSON) 26. Februar 1980 siehe Beispiel 2	1-3,6
X	----- CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS Bd. 20, Nr. 2, 1977, UTRECHT NL Seiten 131 - 139; T. MURAMATSU ET AL: 'Synthesis of Phospholipids. III. Synthesis of 1,2-Dipalmitoyl-rac-Glycerol-3- -Phosphoryl-3, Beta-Cholesterol and 1,2-Dipalmito- yl-rac-Glycerol-3-Phosphoryl-20, -(3-Beta-Hydroxy Norpregn-5-ene)' siehe das ganze Dokument ----- -/-	1-3

<sup>10</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

**IV. BESCHEINIGUNG**

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. JANUAR 1992

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

05. 02. 92

Internationale Recherchenbehörde

EUROPAISCHES PATENTAMT

Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten

WATCHORN P. W.

*Peter Watchorn*

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS Bd. 23, Nr. 1, 1979, UTRECHT NL Seiten 7 - 12; I. HARA ET AL: 'Immunochemical Properties of Phosphatidyl Cholesterol and its Homologue' siehe das ganze Dokument ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 775, Nr. 3, 5. September 1984, UTRECHT NL Seiten 426 - 434; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Lateral Interaction of Cholesterol in Diacylphosphatidylcholesterol Bilayers' siehe Seite 428 ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 691, Nr. 2, 7. Oktober 1982, UTRECHT NL Seiten 240 - 248; J. H. NOGGLE ET AL: 'Bilayers of Phosphatidyl diacylglycerol and Phosphatidylcholesterol Give <sup>31</sup> P-NMR Spectra Characteristic for Hexagonal and Isotropic Phases' siehe Seite 247, Spalte 1 - Seite 247, Spalte 2 ---	1-3
X	BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA Bd. 600, Nr. 3, 14. August 1980, UTRECHT NL Seiten 678 - 688; MAHENDRA KUMAR JAIN ET AL: 'Phosphatidylcholesterol Bilayers A Model for Phospholipid-Cholesterol Interaction' siehe Seite 679 - Seite 680 ---	1-3
X	PHOSPHORUS AND SULFUR Bd. 17, Nr. 1, 1983, Seiten 67 - 71; F. RAMIREZ ET AL: 'Covalent Models for Phospholipid-Sterol Interactions. Synthesis of P hosphatidyl-delta-5,7,9-Cholestatrien-3-beta-ol' siehe das ganze Dokument ---	1-3
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 97, no. 13, 27. September 1982, Columbus, Ohio, US; abstract no. 110220, A. K. SINGH: 'A Convenient and Improved Method for The Preparation of Retinoates' Seite 634 ; Spalte 2 ; siehe Zusammenfassung & SYNTH. COMMUN. Bd. 12, Nr. 6, 1982, Seiten 447 - 451; ---	1-3

-/-

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>SYNTHESIS. Nr. 10, Oktober 1977, STUTTGART DE Seiten 673 - 675; F. RAMIREZ ET AL: 'Synthesis of Phospholiposteroids. Phosphotidylcholesterol' Siehe das ganze Artikel</p> <p>---</p>	1-3
X	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 100, no. 13, 26. März 1984, Columbus, Ohio, US; abstract no. 99762, M. M. GOMEZ ET AL: 'Effect of Sex Hormones on Junin Virus Replication' Seite 347 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung &amp; COMUN. BIOL. Bd. 2, Nr. 2, 1983, Seiten 161 - 166;</p> <p>---</p>	1,3,4
X	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 104, no. 9, 3. März 1986, Columbus, Ohio, US; abstract no. 62329, M. A. VAZQUEZ-ALCANTARA ET AL: 'Synthesis and Biological Assessment of Long-Acting Estradiol Fatty Acid Esters in Ovariectomized Rats' Seite 94 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung &amp; J. STEROID BIOCHEM. Bd. 23, Nr. 5A, 1985, Seiten 599 - 602;</p> <p>---</p>	1
X	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 112, no. 17, 23. April 1990, Columbus, Ohio, US; abstract no. 151977, M. A. VAZQUEZ-ALCANTARA ET AL: 'Long Acting Estrogenic Responses of Estradiol Fatty Acid Esters' Seite 93 ;Spalte 1 ; siehe Zusammenfassung &amp; J. STEROID BIOCHEM. Bd. 33, Nr. 6, 1989, Seiten 1111 - 1118;</p> <p>---</p>	1
A	<p>EP,A,0 375 349 (SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION) 27. Juni 1990 siehe das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1,10
P,X	<p>WO,A,9 105 754 (MEDAFOR) 2. Mai 1991 siehe Ansprüche 1-13; Beispiel 5</p> <p>---</p>	1,10

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

CH 9100221  
SA 52323

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 29/01/92  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4190594	26-02-80	US-A- 4108880	22-08-78
		BE-A- 847942	03-05-77
		CA-A- 1062700	18-09-79
		GB-A- 1543824	11-04-79
		NL-A- 7612201	05-05-77
EP-A-0375349	27-06-90	US-A- 5026882	25-06-91
		AU-A- 4703989	28-06-90
		CA-A- 2005214	23-06-90
		JP-A- 2215796	28-08-90
WO-A-9105754	02-05-91	FR-A- 2653117	19-04-91
		FR-A- 2658185	16-08-91
		EP-A- 0448697	02-10-91

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82